

# **Die Plazenta und das fetale und mütterliche IGF/IGFBP-System: Ein komplexes Zusammenspiel im Rahmen der Regulation des fetalen Wachstums**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Humanmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von                      Florian Legner

geb. in                                Gräfelting

Ravensburg                      2001

Aus dem Medizinischen Zentrum für Kinderheilkunde des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Abteilung Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie  
Leiter: Prof. Dr. Gortner

Gutachter: Prof. Dr. med. W. Kiess

Gutachter: PD Dr. med. U. Lang

Tag der Disputation: 17. Oktober 2001

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1 Einleitung und Fragestellung</b>	<b>5</b>
<b>2 Übersicht</b>	<b>8</b>
2.1 Das IGF/IGFBP-System	8
2.2 IGF-I und IGF-II	9
2.3 IGF-Bindungsproteine	13
2.3.1 IGFBP-1	14
2.3.2 IGFBP-2	15
2.3.3 IGFBP-3	16
2.3.4 Funktionen der IGFBPs	16
2.4 IGF-Rezeptoren	17
2.4.1 Typ-1-IGF-Rezeptor	18
2.4.2 Typ-2-IGF-Rezeptor	19
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>20</b>
3.1 Probanden und Untersuchungsmaterial	20
3.2 Materialien	21
3.3 Spezifische Radioimmunoassays (RIA)	21
3.4 Statistik	23
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>26</b>
4.0 Vorbemerkung	26
4.1 Klinische Daten der untersuchten Probanden	26
4.2 Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3	27
4.3 Prüfung auf geschlechtsspezifische Unterschiede der gemessenen Serumkonzentrationen	29
4.4 Korrelationen des Plazentagewichts mit den IGFs/IGFBPs	29
4.5 Prüfung auf Konzentrationsunterschiede der IGFs/IGFBPs im arteriellen und venösen Serum	30
4.6 Kommt es in der Plazenta zu einem Austausch der IGFs/IGFBPs aus mütterlichem und kindlichem Blut?	34

<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>40</b>
5.1	Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3	40
5.2	Geschlechtsspezifische Unterschiede der IGFs/IGFBPs	41
5.2.1	Maternale IGF-II	43
5.2.2	Kindlich arterielle IGFBP-3	44
5.2.3	Kindlich arterielle IGFBP-2	46
5.3.	Das fetale Wachstum	48
5.4	Rolle der Plazenta bei der Regulation des fetalen Wachstums	50
5.5	IGFs und IGFBPs in der Plazenta	53
5.5.1	Existenz einer funktionellen bzw. morphologischen Plazenta- schränke für die IGFs/IGFBPs	56
5.5.2	Die Plazenta als Zielorgan kindlicher IGFs/IGFBPs	59
5.5.3	Die Plazenta als ein bezüglich der IGFs/IGFBPs endokrin wirkendes Organ	62
5.5.3.1	Mütterliches IGF/IGFBP-System und Plazenta	62
5.5.3.2	Kindliches IGF/IGFBP-System und Plazenta	64
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>83</b>
<b>9</b>	<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis</b>	<b>84</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	<b>87</b>
<b>11</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>88</b>

# 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Sich mit Wachstum zu beschäftigen, bedeutet auch heute in der Wissenschaft noch eine große Herausforderung. Wachstum kommt bei pflanzlichen und tierischen Lebewesen und beim Menschen vor, es stellt für alles Lebendige etwas ganz Charakteristisches dar. Manche Meinungen gehen sogar soweit, Kristalle aufgrund ihres Wachstums als lebendig zu bezeichnen. Bei den meisten Lebewesen kommt neben Wachstum Entwicklung und Veränderung als weiteres Charakteristikum ihrer Lebendigkeit hinzu, bei allen aber die Fortpflanzung.

Beim Menschen gibt es unterschiedliche Wachstums- und Entwicklungsphasen im Laufe seines Lebens. Vom Einzellstadium der befruchteten Eizelle geht er intrauterin durch die Embryonal- und Fetalzeit der Geburt entgegen, um dann, nach Durchleben der Säuglings-, Kleinkindes- und Kinderzeit, nach der Pubertätsentwicklung zum erwachsenen, an Körpergröße nicht mehr zunehmenden Menschen zu werden.

Diese offensichtliche Entwicklung vor Augen hat man natürlich sehr früh damit begonnen, die beobachtbaren, körperlichen Veränderungen genauer zu untersuchen und versucht, diejenigen Substanzen zu finden, die an der Regulation der Wachstums- und Entwicklungsvorgänge wesentlich beteiligt sind.

In dieser Arbeit geht es um fetales, intrauterines Wachstum, um Plazentawachstum und um eine Gruppe von Peptidhormonen, denen in den letzten Jahren bei den Regulationsvorgängen des Wachstums eine große Bedeutung beigelegt wurde, nämlich den insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGFs) und ihre Bindungsproteinen (IGFBPs).

Fetales Wachstum hängt in der späten Schwangerschaft von vielen fetalen, mütterlichen und plazentären Faktoren ab. Bei gesunder Veranlagung des Kindes, einem gesunden mütterlichen Organismus und einer uneingeschränkten Plazentafunktion ist das Nährstoff- und Sauerstoffangebot an das Kind der wesentliche, bestimmende Faktor für eine regelrechte kindliche Entwicklung in der zweiten Schwangerschaftshälfte. Bei der Regulation des Nährstoffangebots und einer richtigen Verteilung und Verstoffwechselung der angebotenen Nährstoffe im kindlichen und mütterlichen Organismus im Rahmen des Wachstums spielen nach neuesten Erkenntnissen Insulin und die IGFs mit ihren IGFBPs eine zentrale Rolle.

Zwischen den Serumkonzentrationen der Faktoren des IGF/IGFBP-Systems und dem kindlichen Körpergewicht konnten wiederholt charakteristische Zusammenhänge

auf den komplexen Interaktionen der IGFs und ihrer Bindungsproteine im fetalen bzw. mütterlichen Organismus. Seltener wurde in diesem Zusammenhang die Rolle der Plazenta näher untersucht. Dort sind in allen fetalen Entwicklungsphasen IGFs und IGFBPs nachzuweisen, z. T. in einer ganz typischen Verteilung zwischen kindlichen und mütterlichen Plazentaanteilen. In welchem Ausmaß die Plazenta nun an der Regulation des kindlichen oder mütterlichen IGF/ IGFBP-Systems beteiligt ist und ob sie IGFs und/ oder deren Bindungsproteine ins kindliche Blut sezerniert und dadurch Einfluß auf die kindliche Entwicklung und sein Wachstum nimmt, darüber ist wenig bekannt.

Die Ausleuchtung der Rolle der Plazenta bei der Regulation des kindlichen Wachstums durch ihre Interaktionen mit dem kindlichen und mütterlichen IGF/IGFBP-System soll den Schwerpunkt dieser Arbeit ausmachen. Zuvor soll jedoch auf die mittleren Serumkonzentrationen der IGFs und ihrer Bindungsproteine im arteriellen und venösen Nabelschnurblut und im mütterlichen Blut bei Termingeborenen und auf den möglichen Einfluß des kindlichen Geschlechts auf diese Konzentrationen eingegangen werden.

Folgende Fragen sollten durch meine Untersuchungen eine Beantwortung finden:

1. In welcher Konzentration kommen die Faktoren des IGF/ IGFBP-Systems im maternalen Blut und im arteriellen und venösen Nabelschnurblut bei gesunden weiblichen und männlichen Neugeborenen am Termin vor ?
2. Hat das Geschlecht des Kindes einen Einfluß auf die Serumkonzentrationen der IGFs/ IGFBPs ?
3. Spielt die Plazenta bei der Regulation der im kindlichen und im mütterlichen Organismus zirkulierenden IGFs bzw. IGFBPs eine Rolle?
  - 3.1 Existiert für die Faktoren des IGF/IGFBP-Systems in der Plazenta eine funktionelle oder morphologische Schranke zwischen kindlichem und mütterlichen Organismus ?
  - 3.2 Inwieweit ist die Plazenta Zielorgan der im kindlichen oder im mütterlichen Kreislauf zirkulierenden IGFs bzw. IGFBPs und wird dadurch in ihrem Wachstum und/ oder in ihrer Funktion beeinflusst ?

- 3.3 Sezerniert die Plazenta Komponenten des IGF/ IGFBP-Systems ins Blut des Feten oder ins maternale Blut und nimmt damit möglicherweise direkt oder indirekt Einfluß auf dessen Entwicklung und Wachstum ?

## 2 ÜBERSICHT

### 2.1 Das IGF/ IGFBP-System

Das IGF/ IGFBP-System besteht aus den insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (Insulin-like-Growth-Factors I und II, IGF-I, IGF-II), ihren Bindungsproteinen (IGFBPs) und ihren Rezeptoren an der Zelloberfläche.

1957 wurde beobachtet, daß das hypophysäre Wachstumshormon (human Growth Hormone, hGH) über einen Zwischenfaktor, den sogenannten 'sulfation-factor' zu einem vermehrten Sulfateinbau im Knorpelgewebe führt. In den folgenden Jahren wurden weitere, die hGH-Wirkung vermittelnde Faktoren gefunden, die man Thymidin-Faktor, Non-suppressible Insulin-like-Aktivität (NSILA), Multiplikation Stimulating Aktivität (MSA) oder Somatomedine nannte. 1978 gelang es Humbel und Rinderknecht, die synonyme Struktur von Somatomedin A und C mit dem IGF-I nachzuweisen. IGF-II ist mit der MSA identisch. Nach Daughaday et al. werden seit 1987 die beiden Hauptvertreter der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren mit IGF-I und IGF-II bezeichnet. Insulinähnlich werden sie wegen ihrer engen phylogenetischen Beziehung zum Insulin genannt, die sich in der 40 %igen Strukturhomologie der IGFs zum Proinsulin und ihrer ähnlichen biologischen Wirkung äußert (2, 3, 34).

Im Gegensatz zu vielen anderen Peptidhormonen zirkulieren die IGFs nicht-kovalent gebunden an spezifische Bindungsproteine, nur circa 1 % der IGFs zirkuliert ungebunden (2). Bis heute wurden sechs verschiedene IGFBP-Klassen differenziert. Sie werden als IGFBP-1 bis IGFBP-6 bezeichnet. Quantitativ am wichtigsten ist beim Erwachsenen das IGFBP-3, beim sich entwickelnden Kind in utero sind es IGFBP-1 und IGFBP-2 (34, 65). In dieser Arbeit wurden nur die Serumkonzentrationen von IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 bestimmt und in ihrem Verhältnis zu den IGFs betrachtet.

Ihre Wirkung entfalten die IGFs über die auf allen Zellen vorkommenden Rezeptoren, dem Typ-1-IGF-Rezeptor, dem Typ-2-IGF/Mannose-6-Phosphat-Rezeptor und zu einem sehr geringen Teil wohl auch über den Insulinrezeptor (2), bzw. über einen Typ-1-IGF-Insulin-Hybridrezeptor(78).



## 2.2 IGF-I und IGF-II

(nach 1, 2, 3, 29, 34)

IGF-I und IGF-II sind basische bzw. saure Polypeptidhormone, die aus 70 bzw. 67 Aminosäuren bestehen (MG: 7649 bzw. 7471 Dalton). Sie weisen je drei Sulfatbrücken auf und stimmen in ihrer Aminosäuresequenz und Struktur in über 60 % überein. Strukturähnlichkeit besteht auch zu allen insulinähnlichen Peptiden (v.a. Proinsulin und Relaxin) und zu anderen Wachstumsfaktoren wie dem Nerve-Growth-Factor (NGF) und dem Epidermal-Growth-Factor (EGF). IGF-I wird auf Chromosom 12 durch fünf Exons kodiert, IGF-II auf Chromosom 11 durch 8 Exons. Das IGF-II-Gen wird nach dem Prinzip des '**paternal imprinting**' exprimiert, d.h. bevorzugt ein elterliches Gen kommt zur Ausprägung. Beim IGF-II ist es das väterliche, im Gegensatz dazu wird beim IGF-II/M6P-Rezeptor nur das mütterliche Gen exprimiert. In den verschiedenen Geweben führt alternatives Splicing nach der Genexpression zu verschiedenen IGF-I- bzw. IGF-II-mRNA-Spezies. Die biologisch wirksamen IGF-Peptide entstehen anschließend durch variable posttranslationale Modifikationen des hochmolekularen Produkts dieser mRNAs wie z.B. unterschiedliche Glykosylierungen und Phosphorylierungen. Über diese Modifikationen ist es eventuell möglich, gewebsspezifisch die IGF-Synthese und ihre Wirkung noch genauer den lokalen Bedürfnissen anzupassen. Die wichtigste IGF-I-Variante ist das des-IGF-I, eine trunkierte Form des IGF-I, dem die ersten drei Aminosäuren fehlen und das aus Nervengewebe und Kolostrum isoliert wurde. Es bindet nicht an die Bindungsproteine und besitzt eine verstärkte biologische Wirksamkeit.

Die Serumspiegel von IGF-I und IGF-II betragen bei Erwachsenen 110-350 ng/ml bzw. 360-880 ng/ml (jeweils 5.-95. Percentile bei 20-30-jährigen, nach 46). Der IGF-I-Spiegel zeigt von der Kindheit an einen stetigen Anstieg der Serumkonzentration bis zu einem Maximum in der Pubertät und darauffolgend einen dem Alter proportionalen leichten Abfall, der sich ab dem 6.-7. Lebensjahrzehnt verstärkt. Die IGF-II-Spiegel bleiben nach dem ersten Lebensjahr bis ins Alter relativ konstant in einer Serumkonzentration von im Mittel 360 - 880 ng/l.

Die **Bildung** der zirkulierenden IGFs erfolgt bei Erwachsenen v.a. in der Leber und im Bindegewebe. Allerdings ist fast jedes Gewebe auch selbst dazu fähig, IGFs nach Bedarf lokal zu synthetisieren (vgl. Tabelle 1)

Im Erwachsenenalter spielen bei der **Regulation** von IGF-I hauptsächlich das hGH, die Ernährung, das Alter und die geschlechtliche körperliche Entwicklung eine Rolle.

hGH stimuliert in sehr vielen Geweben, v.a. aber in der Leber Genexpression und Synthese von IGF-I. Einen ähnlichen Effekt haben aber auch andere Hormone, insbesondere Östrogene und einige Wachstumsfaktoren. Fasten, Hungern, Unterernährung und schwere Traumata führen zu einem Abfall der IGF-I-Serumspiegel (vgl. Tabelle 2).

Über die Regulation von IGF-II ist sehr wenig bekannt. Es scheint nicht GH-abhängig zu sein und variiert bei den verschiedensten Krankheitszuständen streng parallel mit den IGFBP-3-Serumkonzentrationen. Dadurch wird die Unterscheidung schwierig, ob es Faktoren gibt, die den IGF-II-Spiegel im Blut direkt beeinflussen oder ob die IGF-II-Konzentrationen nur durch die IGFBP-3-Konzentrationen bestimmt sind. Es gibt Hinweise, dass bestimmte hormonelle Faktoren die lokale IGF-II-Produktion beeinflussen (z.B. ACTH in der fetalen Nebenniere, FSH in Granulosazellen).

Die **Wirkung** der IGFs kann man zusammenfassend als wachstumsfördernd und anabol bezeichnen. In vitro stimulieren beide IGFs die DNA-Synthese und die Zellproliferation. Bei einigen Zellreihen können die IGFs eine Apoptose verhindern (z. B. bei hämatopoetischen Zellen), wobei man vermutet, daß die Wirkung hierbei nicht nur über den Typ-1-IGF-Rezeptor, sondern auch über den Insulinrezeptor erfolgt. Man beobachtete weiter, daß durch IGF-I und IGF-II die Zelldifferenzierung gefördert wird (z. B. bei Myoblasten, bei Osteoklasten und Osteoblasten, bei Chondrocyten, Nervenzellen und Adipocyten). Dabei scheint v.a. IGF-I in seiner Wirkung einem Grundprinzip zu folgen: es kann seine Wirkung hauptsächlich bei den Zellen entfalten, die bereits durch andere Faktoren (sogenannte '**competence factors**', z.B. PDGF, bFGF bei Fibroblasten) auf die Zellteilung vorbereitet wurden. IGF-I ist dann in einem folgenden Schritt als '**progression factor**' unbedingt notwendig, damit es wirklich zu einer Zellteilung kommt.

IGFs beeinflussen ebenfalls die Zellfunktionen. So stimulieren sie z.B. bei Granulosa- und Thekazellen, bei Leydigzellen, Thymuszellen und Follikelzellen der Schilddrüse Synthese und Sekretion der gewebsspezifischen Hormone oder verstärken deren Wirkung z.B. durch Vermehrung ihrer Rezeptoren auf den Zielzellen. Ein IGF-I-Gradient scheint chemotaktische Bewegungen auslösen zu können (z. B. bei T-Lymphocyten, bei Bronchialepithel-, Endothel- oder Melanomzellen).

Sehr wichtig ist die im Sinne einer Rückkoppelung direkt hemmende Wirkung auf die hGH-Sekretion in der Hypophyse (vgl. Tabelle 3).

In vivo beobachtete man bei hypophysektomierten Tieren, daß IGF-I auch ohne die Anwesenheit von Wachstumshormon eine Zunahme des Längenwachstums und der

Muskelmasse bewirkt. GH verstärkt diese Wirkung. Eine einmalige IGF-I-Infusion bei gesunden Probanden verursachte ziemlich rasch eine symptomatische Hypoglykämie. Bei längerandauernden Infusionen von niedrig konzentriertem IGF-I wurden eine Abnahme der Konzentration an freien Fettsäuren, eine vermehrte Glukoseaufnahme aus dem Blut, ein verminderter Proteinabbau und eine Verminderung der C-Peptidkonzentration im Serum gemessen. IGF-II bewirkte ähnliche Veränderungen, allerdings waren für einen vergleichbaren Effekt höhere Konzentrationen notwendig. IGF-I verbessert die renale Funktion. Es erhöht die glomeruläre Filtrationsrate, den renalen Plasmafluß und fördert die Erholung des Nierenparenchyms nach akuter ischämischer Nierenschädigung.

**Klinische Bedeutung** haben inzwischen v.a. IGF-I und IGFBP-3 erlangt (vgl. Tabelle 2). Bei akromegalen Patienten findet man sehr hohe IGF-I-Konzentrationen im Blut, ein normaler IGF-I-Spiegel schließt eine Akromegalie aus oder weist auf eine erfolgreiche Therapie hin. Erniedrigte Serum-IGF-I- und IGFBP-3-Konzentrationen mißt man bei Kindern mit hypophysärem Kleinwuchs. Allerdings wird man bei Kindern, die jünger als 4 bis 6 Jahre sind, bei der Diagnosestellung eines hGH-Mangels anhand der IGF-I-Spiegel Schwierigkeiten haben, da IGF-I-Serumkonzentrationen in der Säuglings- und Kleinkindzeit physiologischerweise sehr niedrig sind und an der Nachweisgrenze liegen. Erniedrigte IGF-I-Serumwerte sind allerdings nicht spezifisch für einen Wachstumshormonmangel, da schwere Leberfunktionsstörungen und Nierenerkrankungen oder jede Form von Mangelernährung, wie z. B. Fasten, Hungern oder eine Tumorkachexie aber auch Folgen von Traumata oder Operationen und katabole Stoffwechselzustände auf Grund chronischer Erkrankungen zu erniedrigten IGF-I-Werten führen und ausgeschlossen werden müssen. Veränderungen der IGFBP-Spiegel findet man bei chronischem Nierenversagen, bei Urämie, Fasten und beim Diabetes mellitus. Man nimmt an, daß die dabei auftretenden Veränderungen im IGF/IGFBP-System mitverantwortlich für die häufig gleichzeitig beobachteten Wachstumsstörungen sind. Eine wichtige ursächliche Rolle spielen die IGFs beim Laron-Zwergwuchs. Bei dieser Erkrankung führt eine Mutation des hGH-Rezeptormoleküls zu einer absoluten hGH-Resistenz. Das erklärt die extrem niedrigen IGF-I-Spiegel bei sehr hohen hGH-Konzentrationen im Blut.

IGF-II kann bei seltenen nicht-pankreatischen Tumoren, die mit Hypoglykämien einhergehen, als Tumormarker angesehen werden.

Es existieren inzwischen mehrere klinische Studien mit rekombinantem IGF-I. Die wichtigsten **klinischen Anwendungsmöglichkeiten** zeichnen sich wie folgt ab: Beim Laron-Zwergwuchs und anderen genetischen Störungen der hGH-Synthese nutzt man

die wachstumsstimulierende Wirkung von IGF-I bereits. Die blutzuckersenkende Wirkung von IGF-I versucht man bei Patienten mit gravierender Insulinresistenz einzusetzen. Sehr stark wird die Anwendung von IGFs auf dem Gebiet der Wundheilung diskutiert. Dort werden Kombinationen von Wachstumsfaktoren bei der Therapie von Verbrennungen, Knochenbrüchen und Nervenläsionen geprüft.

**Tabelle 1. Charakteristika von IGF-I und IGF-II (modifiziert nach 1, 34)**

	IGF-I	IGF-II
<b>Synonyme</b>	Somatomedin A bzw. C, NSILA	MSA (Ratte)
<b>MG (in Da)</b>	7649	7471
<b>Aminosäuren</b>	70	67
<b>Genort</b>	Chromosom 12; 5 Exons	Chromosom 11; 8 Exons
<b>pH</b>	basisch	leicht sauer
<b>GH-abhängig</b>	ja	wenig
<b>Wirkung über</b>	v.a. Typ-1-IGF-Rezeptor	Typ-2-IGF/ M6P-Rezeptor, weniger Typ-1-IGF-Rezeptor
<b>Strukturähnlichkeit</b>	mit Proinsulin	mit Proinsulin
<b>Konz. i.S. (b. Erw.)</b>	110-350 ng/ml	360-880 ng/ml
<b>Konzentrationsverlauf</b>	niedrig bei Geburt, Maximum in der Pubertät, Abnahme mit dem Alter	Maximum in der Fetalzeit (Ratte), fetal ansteigend, dann konstant ab 1. Lebensjahr (Mensch)
<b>Vorkommen</b>	Urin, Lymphe, Milch, Follikelflüssigkeit, Speichel, Serum	Liquor, Gehirn, Follikel, Speichel, Serum, embryonale Tumoren
<b>Bildungsort</b>	Leber, Bindegewebe, andere Organe	Leber, Bindegewebe, andere Organe
<b>Biologische Wirkung</b>	anabol, Mediator des hGH, insulinähnlich	fetales Wachstum, ZNS-Entwicklung, insulinähnlich

## 2.3 IGF-Bindungsproteine

(nach 2, 3, 17, 31, 48, 50)

Die IGFs liegen im Gewebe und in der Zirkulation zum größten Teil in gebundener Form vor. Dazu dienen die bisher sechs bekannten Klassen von IGF-Bindungsproteinen (IGFBP-1 bis IGFBP-6). Alle IGFBPs bestehen aus 200-300 Aminosäuren mit einer zwischen 20 und 40 Aminosäuren langen Signalsequenz. Ihr Molekulargewicht liegt zwischen 24 und 53 kDa (vgl. Tabelle 4). Am C- und N-terminalen Ende befindet sich bei allen BPs eine cysteinreiche Sequenz. Die Affinität der Bindungsproteine zu den IGFs wird mitbestimmt durch das Ausmaß ihrer Phosphorylierung, d. h., die höher-phosphorylierten Formen haben höhere Affinitäten zu den IGFs.

IGFBP-4 bis 6 werden in dieser Arbeit nicht untersucht. Ihre Konzentrationen im Blut sind sehr gering und man weiß bisher relativ wenig über Regulation und Wirkung dieser Proteine.

**Tabelle 2.** IGF-I-, IGF-II- und IGFBP-3-Konzentrationen im Serum bei verschiedenen Erkrankungen (modifiziert nach 66)

	IGF-I	IGF-II	IGFBP-3
<b>hGH-Mangel</b>	erniedrigt	erniedrigt	erniedrigt
<b>Akromegalie</b>	erhöht	unverändert	erhöht
<b>Hypothyreose</b>	erniedrigt	unverändert	erniedrigt
<b>Lebererkrankungen</b>	erniedrigt	unverändert	erniedrigt
<b>chronisches Nierenversagen</b>	(erniedrigt)	(erhöht)	erhöht
<b>IDDM</b>	erniedrigt	unverändert	(erhöht)
<b>chronische Malnutrition</b>	erniedrigt	unverändert	erniedrigt
<b>Trauma</b>	erniedrigt	?	erniedrigt
<b>schwere Operationen</b>	erniedrigt	?	erniedrigt
<b>Tumoren, Leukämien</b>	erniedrigt	?	erniedrigt
<b>Pubertas præcox</b>	erhöht	?	erhöht
<b>Fasten</b>	erniedrigt	unverändert	(unverändert)

(Angaben in Klammern werden kontrovers diskutiert)

**Tabelle 3. Biologische Wirkung der IGFs (modifiziert nach 1)**

<b><u>in vitro:</u></b>	Stimulation von Glukoseaufnahme Stimulation von Proteinsynthese Stimulation von DNA-Synthese Stimulation von RNA-Synthese Stimulation von Mitogenese in der Zellkultur Stimulation von Ionenfluß Stimulation von Zelldifferenzierung Stimulation von Synthese der extrazellulären Matrix
<b><u>in vivo:</u></b>	Förderung des longitudinalen Knochen- und des Muskelwachstums Erhöhung der Stickstoffretention Senkung des Blutzuckerspiegels Antilipolytischer Effekt Suppression der hGH-Synthese und -Sekretion Suppression der Insulin- und C-Peptid-Sekretion Stimulation der Kreatininclearance Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate Erhöhung des renalen Plasmaflusses Stimulation der Erythropoese Effekte auf Thymusgröße, Thymuszellgehalt und Thymusarchitektur

### **2.3.1 IGFBP-1**

Zirkulierende IGFBP-1 werden v.a. in der Leber synthetisiert. Die IGFBP-1-Serumspiegel sind altersabhängig mit hohen Werten bei Geburt (beim Menschen im Mittel etwa 70 ng/ml), einem Minimum während der Pubertät (im Mittel 16 ng/ml) und einem erneuten Anstieg bis ins Alter. IGFBP-1 kann im Gegensatz zum IGFBP-3 das Gefäßbett verlassen und dient aus diesem Grund wahrscheinlich als Transportprotein der IGFs zu den Zielzellen ins Gewebe. Als einziges Bindungsprotein weist es eine circadiane Rhythmik mit hohen Spiegeln in der Nacht und niedrigen Werten am Tag auf, die von der Nahrungsaufnahme abhängig sind (2, 19). Es ist im Gegensatz zu IGF-I und IGFBP-3 nicht wachstumshormonabhängig, steht jedoch in enger Beziehung zum Insulin und zum Glukosestoffwechsel. IGFBP-1 und Glukose werden beide von Insulin und Glukagon reguliert: Insulin hemmt die Glukose- und IGFBP-1-Produktion in der Leber und fördert den Glukose- bzw. IGFBP-1-Ausstrom aus den Gefäßen, dagegen stimuliert Glukagon die Glukoneogenese und die IGFBP-1-Sekretion in der Leber. Man fand eine streng inverse Korrelation zwischen den IGFBP-1- und den Insulinspiegeln bei gesunden Probanden, beim Fasten, bei Diabetikern und bei Patienten mit GH-Mangel, Akromegalie oder M. Cushing (19). IGF-I wirkt ähnlich dem

Insulin und supprimiert die IGFBP-1-Sekretion. Auf lokaler Ebene kontrollieren zudem andere Faktoren wie Progesteron und Relaxin die Produktion von IGFBP-1, so z. B. in den Deziduazellen des Endometriums, die während der Schwangerschaft eine Hauptquelle für IGFBP-1 darstellen. Dort wurde IGFBP-1 als plazentäres Protein 12 (pp12) erstmalig isoliert. Eine andere Bezeichnung war schwangerschaftsassoziertes endometriales alpha-1-Globulin (5).

### **2.3.2 IGFBP-2**

IGFBP-2 zeigt nur eine geringe circadiane Rhythmik und hat eine ähnliche Altersabhängigkeit wie IGFBP-1. Die Serumspiegel liegen dabei um eine Größenordnung über denen von IGFBP-1. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen gefunden. Die bei weitem höchsten Konzentrationen findet man beim Menschen in der Samenflüssigkeit gesunder Männer und in der menschlichen Milch. Zum GH-Status besteht eine inverse Beziehung. So wurden bei Patienten mit GH-Mangel leicht erhöhte Werte gemessen, die sich schließlich während einer hGH-Therapie normalisierten und umgekehrt wurden bei akromegalischen Patienten erniedrigte IGFBP-2-Werte im Serum gefunden, die nach Exstirpation GH-sezernierender hypophysärer Tumoren wieder anstiegen. Eine IGF-I-Behandlung von Patienten mit Laron-Zwergwuchs über mehrere Wochen bewirkte einen signifikanten Anstieg der IGFBP-2-Serumkonzentrationen. Zwischen der Insulinsekretion und den IGFBP-2-Spiegeln konnten im Gegensatz zum IGFBP-1 keine klaren Beziehungen aufgedeckt werden. Dexamethason führt zu erniedrigten IGFBP-2-Spiegeln, während bei einer Gabe von Thyroxin keine Auswirkungen auf die Serumkonzentration von IGFBP-2 bemerkt werden konnten. Längeres Fasten, leichte bis mittlere Leberfunktionsstörungen sowie chronisches Nierenversagen führen zu erhöhten IGFBP-2-Spiegeln. Stark erhöhte Werte fand man bei Kindern, die an akuten lymphoblastischen Lymphomen oder an Non-Hodgkin-Lymphomen erkrankt waren. Aufgrund von extrem erhöhten IGF-II-Spiegeln verbunden mit gleichzeitig erhöhten IGFBP-2-Werten, die man bei Patienten mit Nicht-Inselzelltumor-induzierten Hypoglykämien gefunden hat, vermutet man, daß das freie IGF-II als Hauptregulator des IGFBP wirkt. Es hat mit Abstand die stärkste Affinität zu IGFBP-2 (20).

### 2.3.3 IGFBP-3

IGFBP-3 ist nach dem ersten Lebensjahr das Hauptbindungsprotein für IGFs im Serum. Die IGFBP-3-Serumkonzentrationen zeigen keine circadiane Rhythmik und sind im Gegensatz zu den IGFBP-1- und -2-Spiegeln niedrig bei Geburt. Danach beobachtet man einen steilen Anstieg mit Maximalwerten während der Pubertät und dann konstanten bis leicht fallenden Werten bis ins Alter. Hauptregulator von IGFBP-3 ist wie bei IGF-I das hGH. So fand man bei an GH-Mangel leidenden Patienten erniedrigte, bei an Akromegalie erkrankten Menschen hingegen erhöhte IGFBP-3-Serumspiegel, die sich nach entsprechender Therapie wieder zum Normbereich hin bewegten. Der stimulierende Effekt des hGH auf IGFBP-3 wird nicht durch IGF-I vermittelt.

IGFBP-3 bildet im Blut als einziges Bindungsprotein in Anwesenheit von IGF-I bzw. IGF-II mit einer säure-labilen Untereinheit (Acid-labil-Subunit, **ALS**) einen 150 kDa schweren, sogenannten Ternärkomplex, wodurch die Halbwertszeit der IGFBP-3 (und v. a. auch der IGFs) deutlich verlängert wird, weil dieser Komplex das Gefäßsystem nicht verlassen kann. Die Synthese der ALS ist hGH-abhängig. Sie zeigt einen in etwa fünffachen Konzentrationsanstieg von der Geburt an bis zur Pubertät, danach bleiben die Werte konstant. Trotz einer relativ niedrigen Affinität zu IGFBP-3 sind wegen der hohen ALS-Konzentrationen im Blut etwa 90% des IGFBP-3 im Ternärkomplex gebunden (17).

Erhöhte IGFBP-3-Werte findet man bei Kindern mit Pubertas praecox, bei Patienten mit M. Cushing oder mit einer chronischer Niereninsuffizienz. Die IGFBP-3-Spiegel sind erniedrigt bei Hypothyreose, Fasten, großen Tumoren, Leukämien, nach schweren Polytraumata und Operationen und bei eingeschränkter Leberfunktion (vgl. Tabelle 2).

### 2.3.4 Funktionen der IGFBPs

(nach 2, 3, 67)

Es ist wahrscheinlich, daß den verschiedenen IGFBPs unterschiedliche Funktionen zukommen. Dafür spricht das uneinheitliche Verteilungsmuster der einzelnen IGFBPs in den Geweben, ihre wechselnde Zusammensetzung während der Entwicklung und ihre unterschiedliche Regulation (vgl. Tabelle 4).



Den IGFBP-3 wird beim Erwachsenen die Rolle eines IGF-Pools zugesprochen, wobei es durch die Bindung der IGFs an IGFBP-3 und der Bildung des Ternärkomplexes mit ALS zu einer Verlängerung der Halbwertszeit der IGFs kommt. Die IGFs würden ansonsten viel schneller verstoffwechselt. Die Bindung an IGFBP-3 puffert außerdem große hGH-abhängige IGF-Fluktuation ab, die, wenn man die Rolle der IGFs betrachtet, unphysiologisch wären. IGFBP-1 könnte der Feinabstimmung der IGF-Spiegel dienen und spielt wahrscheinlich eine dem Insulin antagonistische Rolle im Glukosestoffwechsel. IGFBP-2 könnte ebenfalls der Feinregulierung der IGFs und zusätzlich als spezieller Puffer für freies IGF-II fungieren, der akute insulinähnliche Effekte verhindert. Beiden, IGFBP-1 und -2, scheint eine Rolle beim IGF-Transfer durch das Gefäßendothel zu den Zielzellen zuzukommen.

Auf zellulärer Ebene wird der Einfluß der IGFBPs auf die Wirkung der IGFs kontrovers diskutiert. Bei allen IGFBPs wurden hemmende Effekte gefunden, die mit der Bindung der IGFs an ihre Bindungsproteine zusammenhängen dürften. Versuchsabhängig wurden bei IGFBP-1,-2,-3 und -5 auch stimulierende Effekte gefunden. Dabei spielen der Grad der Phosphorylierung (IGFBP-1), Glykosylierung, eine proteolytische Spaltung durch verschiedene Proteasen und die Bindung der IGFBPs an die Zelloberfläche (IGFBP-3) oder an die extrazelluläre Matrix (IGFBP-5) eine wichtige Rolle. Schließlich wurden auch direkte, IGF-unabhängige IGFBP-Wirkungen beobachtet, die durch Bindung von z. B. IGFBP-1 oder IGFBP-2 an alpha 5-beta 1-Integrinrezeptoren auf den Zelloberflächen vermittelt werden.

## **2.4 IGF-Rezeptoren**

(nach 2, 3, 18)

IGF-I wie IGF-II wirken über hochaffine Rezeptoren, die sich auf den Zellmembranen in nahezu allen Geweben befinden. Es werden heute zwei verschiedene IGF-Rezeptortypen unterschieden, der Typ-1-IGF-Rezeptor und der Typ-2-IGF-Rezeptor. IGF-I und IGF-II können auch mit dem Insulinrezeptor interagieren, wobei die Affinität der IGFs zu diesem Rezeptor nur etwa den hundertsten Teil der Affinität des Insulins ausmacht. Die beschriebenen biologischen Wirkungen der IGFs erfolgen hauptsächlich über den Typ-1-IGF-Rezeptor (vgl. Tabelle 5).

**Tabelle 4. IGF-Bindungsproteine (modifiziert nach 31, 66)**

	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3	IGFBP-4	IGFBP-5	IGFBP-6
<b>Chromosom</b>	7p	2q	7p	17p	2q	12
<b>MG (kDa)</b>	25.3	31.4	28.7 *)	25.9	28.5	22.8
<b>AS</b>	234	289	264	237	252	216
<b>Glykos.</b>	O-Glyk.	nein	N-Glyk.	N-Glyk.	nein	N-Glyk.
<b>RGD-Sequenz</b>	ja	ja	nein	nein	nein	nein
<b>Ka in nM<sup>-1</sup></b>	<b>IGF-I</b>	5	1	10	20	30
	<b>IGF-II</b>	10	20	10	20	30
<b>Bildungsort</b>	Dezidua, Fetus, Leber	Leber	Leber, Bindege- webe	Osteosar- kom	Osteosar- kom, ZNS, Knochen	ZNS, transf. Fibro- blasten,
<b>Vorkommen</b>	AF, S, MM, U, SY, IF, SF	CSF, S, MM, U, SF, IF, L, FF, SF, AF	S, FF, MM, U, CSF, AF, SF, IF, SF	S, FF, SF, IF, SF	S, CSF	CSF, S, AF
<b>Regulation</b>	Glukose, Insulin, Glukagon	IGF-II, (GH), Fasten	GH, IGFs, Ernährung	?	?	?

MG = scheinbares Molekulargewicht nach Elektrophorese unter nicht-reduzierenden Bedingungen, AS = Zahl der Aminosäuren, Ka = Bindungsaffinität zu, Glykos. = potentielle N- oder O-verbundene Glykosylierung, \*) IGFBP-3 ist im Serum mit ALS zu einem 150 kDa schweren Komplex verbunden (s.Text). AF: Amnionfl., S: Serum, MM: Muttermilch, U: Urin, SY: Synovialfl., IF: interstitielle Fl., SF: Samenfl., CSF: zerebrospinale Fl., L: Lymphe, FF: Follikelfl.,

#### 2.4.1 Typ-1-IGF-Rezeptor

Der Typ-1-IGF-Rezeptor ist eng verwandt mit dem Insulinrezeptor und besteht wie dieser aus je zwei alpha- und zwei beta-Untereinheiten. Die alpha-Untereinheiten liegen extrazellulär und dienen der IGF-Bindung, während die beta-Untereinheiten eine transmembranäre Domäne und intrazellulär eine Tyrosinkinase-Domäne und eine ATP-Bindungsstelle besitzen. Beide Untereinheiten liegen in glykosylierter Form vor und sind durch Disulfidbrücken verbunden. Die Affinität des Typ-1-IGF-Rezeptors zu IGF-I ist etwas größer als zu IGF-II, jedoch um etwa das hundertfache größer als zum Insulin. Die Bindung eines Liganden führt zu einer Aktivierung der Tyrosinkinase und einer nachfolgenden Phosphorylierungskaskade, von der eine Vielzahl von intrazellulären Proteinen betroffen sind. Die genaue Differenzierung der intrazellulären Prozesse ist sehr schwierig. Es scheinen in dieser Kaskade viele Zwischenverbindungen zu den Signaltransduktionsmechanismen des Insulinrezeptors und der Rezeptoren anderer Wachstumsfaktoren zu bestehen.

### 2.4.2 Typ-2-IGF-Rezeptor

Der Typ-2-IGF-Rezeptor ist identisch mit dem Mannose-6-Phosphat-Rezeptor, weshalb man ihn auch als IGF-II/Mannose-6-Phosphat (M6P)-Rezeptor bezeichnet. Er besteht aus einer kurzen transmembranären Domäne und einem ungewöhnlich kurzen zytoplasmatischen Anteil. Extrazellulär liegen über 90% des Rezeptors, angeordnet in 15 sich wiederholenden gleichartigen Abschnitten. Er besitzt zu IGF-II die höchste Affinität, die zu IGF-I ist um zwei Größenordnungen niedriger und zum Insulin besteht quasi gar keine Affinität.

**Tabelle 5.** IGF-Rezeptoren (nach 2)

	Typ-1-IGF-Rezeptor	Typ-2-IGF-Rezeptor
<b>Genort</b>	Chromosom 15	Chromosom 19
<b>Affinitäten</b>	I > II >> Insulin	II >> I >>> Insulin
<b>MG (in kDa)</b>	450	260
<b>Tyrosinkinaseaktivität</b>	ja	nein
<b>Verwandtschaft</b>	ähnlich dem Insulinrezeptor	homolog mit dem M6P-Rezeptor
<b>Charakteristik</b>	vermittelt v. a. IGF-I-Wirkung und z.T. IGF-II-Wirkung	besitzt 2 Bindungsstellen für 1. IGF-II 2. M6P-enthaltende lysosomale Enzyme
<b>Vorkommen</b>	ubiquitär	ubiquitär

### **3 MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Probanden und Untersuchungsmaterial**

Es wurde durch die jeweils dort tätigen Gynäkologen bzw. Hebammen in drei Krankenhäusern bei insgesamt 123 Neugeborenen (78 aus der Universitätsfrauenklinik Gießen, 17 aus dem Evangelischen Krankenhaus Gießen und 28 aus einem Essener Krankenhaus) unmittelbar nach Durchtrennung der Nabelschnur 0.5-5 ml arterielles und venöses Blut aus dem plazentären Anteil der Nabelschnur punktiert. Nur bei 92 Müttern konnte im Rahmen von Routineblutabnahmen innerhalb von 24 Stunden vor Geburt 2-5 ml venöses Blut aus der Vena cubitalis gewonnen werden, sodaß schließlich 123 Serumgruppen, davon etwa ein Viertel unvollständig, d.h. nur als Serumpaar oder in zwei Fällen als venöse Einzelproben zur Verfügung standen. Alle gewonnenen Blutproben wurden innerhalb von 6 Stunden bei 2000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert, abgesert und das Serum bei -20°C tiefgefroren.

35 Neugeborene mußten wegen kindlicher oder mütterlicher Erkrankungen, wegen Fehlbildungen, Geburtskomplikationen bzw. Frühgeburtlichkeit ausgesondert werden. Die verbleibenden insgesamt etwa 240 Serumblutproben stammen von termingeborenen, bei der Erstuntersuchung gesund erscheinenden Neugeborenen und ihren Müttern, die ebenfalls an keiner ernsthaften körperlichen Erkrankung litten und deren Schwangerschaften ohne wesentliche Komplikationen verliefen. Keine Schwangerschaft war eine Mehrlingsschwangerschaft. Klinische Daten wurden in der Universitätsfrauenklinik Gießen durch den klinikseigenen perinatologischen Basiserhebungsbogen, in den beiden anderen Krankenhäusern durch die Geburtenbücher und z. T. durch direkte Befragung der Mütter gewonnen.

Sämtliche Mütter wurden vor der Proben- und Datengewinnung nach einer kurzen Information um ihre Zustimmung zu den geplanten Untersuchungen gebeten.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität Gießen geprüft und für vertretbar erklärt.

### 3.2 Materialien

Alle Labormessungen wurden in der Kinderklinik der Universität Gießen im Labor von Herrn PD Dr. W. Blum, das von der Firma Lilly-Pharma getragen wird, durchgeführt. Rekombinant hergestelltes IGF-I und IGF-II stammt von Kabi-Pharmacia, Stockholm, Schweden, 1. Antikörper gegen IGF-I und gegen IGF-II von der Firma Mediagnost, Tübingen. Standard-Lösungen für die IGFBP-1,-2 und -3-Bestimmung sowie die ersten Antikörper gegen IGFBP-1,-2 und -3 wurden im Labor selbst produziert und mir zur Verfügung gestellt. Beim 2. Antikörper handelte es sich um ein Schaf-anti-Kaninchen-Gammaglobulin, das von Dr. Breier, Auckland, Neuseeland stammt. Die Reagenzien für die speziellen Pufferlösungen, für das Präzipitationsreagenz und für das Waschen der Präzipitate (vgl. Tabelle 7) wurden von den üblichen Firmen erworben und wiesen in der Regel höchste Reinheitsgrade auf.

### 3.3 Spezifische Radioimmunoassays (RIA)

Die Serumkonzentrationen aller Parameter wurden von mir mit Hilfe spezifischer **Radioimmunoassays (RIA)** bestimmt. Als Besonderheit ist bei der Messung der IGF-I- und IGF-II-Konzentrationen durch RIAs die Blockierung der IGFBPs durch Zugabe eines Überschusses von rhIGF-II bei der IGF-I-Bestimmung bzw. von rhIGF-I bei der IGF-II-Bestimmung zu erwähnen (sogenannte **IGFBP-blockierte RIAs**). Jede Probe wurde als Doppelbestimmung gemessen, wobei ich als Ergebniswert den Mittelwert der beiden Einzelmessungen weiterverwendete, wenn die Abweichung weniger als 5% betrug. Ich versuchte, pro Parameter komplett alle arteriellen, venösen bzw. maternalen Proben jeweils in einem Assay zu messen, um Vergleichbarkeit zu garantieren. Lediglich fehlbestimmte Proben wurden in einem folgenden Assay nochmals nachgemessen, die Anzahl dieser Proben betrug jedoch immer weniger als 5 von 123. Zur Abschätzung der Variabilität der Ergebnisse innerhalb eines Assays (**Intraassaykontrolle**) bestimmte ich einmal pro Parameter eine Probe in regelmäßigen Abständen etwa 10 bis 12 mal, zur Vergleichung der Ergebnisse aus verschiedenen Assays dienten die **Interassayabweichungen** der mitgeführten Kontrollproben aus einem laboreigenen Serumpool (vgl. Tabelle 8 und 9). Die für die verschiedenen Tests angenommene Sensitivität bzw. Spezifität ist übersichtlich aus Tabelle 10 zu entnehmen.

Die **Durchführung der RIAs** war bei jedem Ansatz prinzipiell gleich. Die ursprüngliche Serumprobe wurde in einem bestimmten Verhältnis mit einer speziellen Pufferlösung (Reagenz A1 für IGF-I und IGF-II bzw. Reagenz A3 für IGFBP1, IGFBP-2 und IGFBP-3) verdünnt (vgl. Tabelle 6 und 7) und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Währenddessen stellte ich sehr sorgfältig eine geometrisch Verdünnungsreihe mit rhIGF-I, rhIGF-II bzw. rhIGFBP-1, rhIGFBP-2 und rhIGFBP-3 her (rh steht für rekombinant hergestellte, humane Faktoren), anhand der der Computer des Gammazählers schließlich die Ergebniswerte bestimmte. Zusätzlich wird eine Leerprobe ( $B_0$ ) mit Pufferlösung (Reagenz A1 bzw. A3) und eine Probe mit Kaninchenglobulin (Reagenz B) zur Bestimmung der nichtspezifischen Bindung (NSB) bereitgestellt. 100 µl der verdünnten Serumproben wurden in einer Doppelbestimmung dann nach einem Pipettierschema (vgl. Tabelle 11) mit dem 1. Antikörper (Reagenz C) und der Tracerlösung (Reagenz D) versetzt, vorsichtig auf einem Schüttelgerät geschüttelt und bei 4°C für zwei Tage inkubiert. Den Tracer stellt man kurz vor dem Assay aus einer Tracerstocklösung her, die mit  $^{125}\text{Jod}$  radioaktiv markiertes rhIGF-I oder rhIGF-II bzw. rhIGFBP-1, rhIGFBP-2 oder rhIGFBP-3 enthält. Diese Lösung muß mit der Pufferlösung A2 bzw. A3 (für IGF-I und IGF-II bzw. für IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3) auf etwa 15-20 000 cpm/100µl verdünnt werden.

Nach zwei Tagen wurde der gesamte Ansatz bis auf die Röhrchen mit der Tracerlösung mit 500 µl Präzipitationsreagenz (Reagenz E) versetzt und nach einer Stunde Inkubation bei 4°C für 15 Minuten bei 3800 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgekippt, alle Proben mit kalter 0.1 %iger Tritonlösung gewaschen und sofort wieder bei 4°C für 5 Minuten bei 3800 U/min zentrifugiert. Nach nochmaligem Abkippen des Überstandes wurde schließlich die Radioaktivität der in den Röhrchen verbleibenden Präzipitate im Gammazähler gemessen und vom Computer zusammen mit den Ergebniswerten ausgedruckt (35, 44, bezüglich der Reagenzien vgl. Tabelle 7).

Die **Radiojodination** zur Herstellung der IGF-I, -II bzw. IGFBP-1, -2, -3-Tracerstocklösungen wurde von den Mitarbeitern des Labors und nicht von mir selbst durchgeführt. Verwendet wurde die Chloramin-T-Methode. Dabei wird  $\text{Na}^{125}\text{J}$  in Anwesenheit des zu markierenden Proteins von Chloramin oxidiert, wodurch es zu einem Einbau von  $^{125}\text{J}$  in einen großen Anteil der Tyrosinresiduen des Proteins kommt. Überschüssiges Chloramin wird durch Natriumdisulfit reduziert, freies Jod zu Jodid. Die Methode wird als einfach und sehr effektiv beschrieben (35).

### 3.4 Statistik

Die gemessenen Daten der vorliegenden Arbeit wurden am Institut für Medizinische Informatik der Universität Gießen von Herrn Dr. Bödeker und seiner Mitarbeiterin Frau Scheibelhut mit Hilfe des Statistikprogramms SAS ausgewertet.

Bei der Erstellung der deskriptiven Statistik (Darstellung als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, Spannweite) wurden alle untersuchten Parameter in unlogarithmiertem und in logarithmiertem Zustand auf Normalverteilung getestet.

Zur Aufdeckung möglicher Unterschiede der Serumkonzentrationen aller Parameter bezüglich des Geschlechts der Neugeborenen wurde der für nichtnormalverteilte Daten verwendbare Wilcoxon-Rangsummen-Test und zur Verifizierung dieser Ergebnisse gleichzeitig der ebenfalls verteilungunabhängige Mediantest durchgeführt.

Um Zusammenhänge zwischen den Serumkonzentrationen in den einzelnen Kompartimenten und zum Plazentagewicht aufzudecken, wurden entweder Methoden der einfachen linearen Regression oder Korrelationsberechnungen mit Hilfe des verteilungsunabhängigen Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten durchgeführt.

**Tabelle 6. Verdünnungen**

	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3
<b>arteriell</b>	50	50	20	50	200
<b>venös</b>	50	100	10	50	200
<b>maternal</b>	150	150	8	6	600

**Tabelle 7. Verwendete Reagenzien**

**A1: saurer Assaypuffer für IGF-I und IGF-II (20mM Phosphatpuffer, pH 2.8):**

2.5926 mM ortho-Phosphorsäure (205 µl/l), 16.409 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (2.264 g/l), 5 mM EDTA (1.860 g/l), 120 mM NaCl (7.010 g/l), 0.02 % NaN<sub>3</sub>, (0.2 g/l), 0.2 % Teleostean-Gelatine (2.0 ml/l), 0.1 % Triton X-100 (1.0 ml/l), mit konzentrierter HCl auf pH 2.8 eingestellt.

**A2: alkalischer Assaypuffer für IGF-I und IGF-II (100 mM Phosphatpuffer, pH 7.8):**

75.55 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O (13.45 g/l), 24.45 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O (3.37 g/l), 40.00 mM NaCl (2.34 g/l), 0.02% NaN<sub>3</sub> (0.2 g/l), 0.2 % Teleostean-Gelatine (2.0 ml/l), 0.1 % Triton X-100 (1.0 ml/l)

**A3: Assaypuffer für IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3:**

0.05 mol/l Natriumphosphat (7.1 g/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 1.35 g/l NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O), 0.10 mol/l NaCl (5.83 g/l), 0.05% NaN<sub>3</sub> (0.5g/l), 0.2% Teleostean-Gelatine (2ml/l), 0.1% Triton X-100 (1ml/l), mit 2 N NaOH auf pH 7.4 eingestellt.

**B: Kaninchen-Gammaglobulin-Lösung:**

50 µg/ml Kaninchen-Gammaglobulin in alkalischem Assaypuffer (Reagenz A2) für die IGFs bzw. in IGFBP-Assaypuffer (Reagenz A3) für die IGFBPs

**C: 1. Antikörper:**

Kaninchen-anti-IGF-I, und anti-IGF-II-Serum bzw. Kaninchen-anti-IGFBP-1,-anti-IGFBP-2- und anti-IGFBP-3-Serum verdünnt in Reagenz A2 (Verdünnung für IGF-I 1:50000 mit Zusatz von 250 ng/ml rhIGF-II, für IGF-II 1:10000 mit Zusatz von 375 ng/ml rhIGF-I, für IGFBP-1 1:2500, für IGFBP-2 1:1500 und für IGFBP-3 1:7000)

**D: Tracer:**

Tracerstocklösung (mit <sup>125</sup>J radiojodiniertes IGF-I, IGF-II bzw. IGFBP-1, IGFBP-2 oder IGFBP-3), verdünnt auf 15-20000 cpm/100µl in Reagenz A2 bzw. A3

**E: Präzipitationsreagenz (2. Antikörper):**

Ziege-anti-Kaninchen-Immunglobulin-Serum, unmittelbar vor Verwendung auf 1:400 verdünnt mit 4°C kalter 4%-iger Polyethylenglykol (PEG)-Lösung

**Tabelle 8. Variabilität innerhalb der Serie (Intraassay-Abweichungen)**

	Zahl der Messungen	mittlere Konzentration (ng/ml)	B/B <sub>0</sub> (in %)	Variationskoeff- fizient (in %)
IGF-I	9	84.4	31	5.0
IGF-II	10	552	25	5.5
IGFBP-1	12	276	4	1.8
IGFBP-2	10	587	49	4.3
IGFBP-3	11	4281	35	0.9



**Tabelle 9.** Variabilität von Tag zu Tag (Interassay-Abweichung)

	Zahl der Messungen	mittlere Konzentration (ng/ml)	B/B <sub>0</sub> (in %)	Variationskoeffizient (in %)
IGF-I	3	121	25 bzw. 48	3.0
IGF-II	3	721	25	3.6
IGFBP-1	3	107	48 bis 71	10.2
IGFBP-2	3	95	41 bis 48	12.2
IGFBP-3	3	2425	25 bzw. 49	2.1

**Tabelle 10.** Sensitivitäten bzw. Spezifitäten der jeweiligen RIAs  
(vergleiche auch 35, 44)

RIA für	Sensitivität (ng/ml)	Kreuzreaktivitäten zu (in %)
IGF-I	0.02	IGF-II: < 0.05
IGF-II	0.08	IGF-I: < 0.05
IGFBP-1	0.7	IGFBP-2: < 0.5 IGFBP-3: < 0.05
IGFBP-2	0.12	IGFBP-1: < 1 IGFBP-3: < 0.015
IGFBP-3	0.06	IGFBP-1: < 0.05 IGFBP-2: < 0.05

**Tabelle 11.** Pipettierschema für die IGF/ IGFBP-RIAs (alle Angaben in µl)

#	Meßwert	A1 bzw. A3	Standards, Kontrollen, Proben	B	C *	D *	E
1,2	TC	--	--	--	--	100	--
3,4	NSB	100	--	100	--	100	500
5,6	B <sub>0</sub>	100	--	--	100	100	500
7-20	Standards	--	100	--	100	100	500
21,22	Kontrolle 1	--	100	--	100	100	500
23,24	Kontrolle 2	--	100	--	100	100	500
25,26	Probe 1	--	100	--	100	100	500
27,28	Probe 2	--	100	--	100	100	500
etc.							

Reagenzien: A1 bzw A3: Assaypuffer, B: Kaninchen-Gammaglobulin, C: 1. Antikörper, D: Tracer, E: 2. Antikörper (vgl. Tabelle 7). \*: bei IGFBP-1-RIA nur je 50 µl.

## **4 ERGEBNISSE**

### **4.0 Vorbemerkung**

Alle Daten von den Proben, die nach den weiter unten genannten klinischen Kriterien nicht ausgeschlossen wurden, wurden von mir im Sinne einer explorativen Datenanalyse untersucht, d. h., ich untersuchte nicht nur gezielt ganz bestimmte, sinnvoll erscheinende Beziehungen zwischen zwei Parametern und habe dann auch nur diese analysiert, sondern ich habe immer die Gesamtheit der Daten nach der jeweiligen Fragestellung hin analysiert, wie dies aus den angegebenen Ergebnistabellen auch ersichtlich ist. Der daraus möglicherweise entstehende lokale Fehler (z. B. daß bei 30 durchgeführten Untersuchungen bei einem Signifikanzniveau von 5 % etwa 2 positive Ergebnisse wahrscheinlich werden, obwohl dies keiner Tatsache in der Realität entsprechen muß) wurde in den angewandten Verfahren nicht mitberücksichtigt, muß aber in der Beurteilung immer mitbedacht werden. In den Diagrammen habe ich meist nur diejenigen Ergebnisse abgebildet, die mir in irgendeiner Weise auffällig und erwähnenswert erschienen und die ich schließlich auch diskutiert habe. Vordergründig kann es dadurch zu einer quasi 'optischen Verzerrung' kommen, weil nur positives erscheint und das Gros der nicht signifikanten Ergebnisse nicht zur Darstellung kommt.

### **4.1 Klinische Daten der untersuchten Probanden**

Es wurden die Ergebnisse der Untersuchungen des venösen und arteriellen Serums von 88 Neugeborenen (51 Mädchen, 37 Jungen) sowie des venösen Serums von 69 ihrer Mütter für die weiterführenden Analysen verwendet. Die Geburt aller Kinder erfolgte zwischen der 38. und 42. Schwangerschaftswoche spontan und unkompliziert, bei fünf Mädchen und drei Knaben war eine Vakuumextraktion zur Geburtsunterstützung nötig, eine Sektio war bei keinem der Kinder indiziert. Mädchen und Knaben waren bei Geburt im Mittel annähernd gleich schwer ( $3390 \pm 425\text{g}$ , 2250-4270g vs.  $3513 \pm 454\text{g}$ , 2600-4890g), das Plazentagewicht bei den weiblichen und männlichen Neugeborenen unterschied sich ebenfalls im Mittel nicht ( $570 \pm 88\text{g}$ , 400-750g vs.  $573 \pm 103\text{g}$ , 390-750g). Weder die Kinder noch ihre Mütter litten bekanntermaßen unter einer schwerwiegenden Erkrankung.

#### 4.2 Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 im venösen und arteriellen Nabelschnurblut und im venösen mütterlichen Blut bei Termingeborenen

Der mittlere Serumspiegel für **IGF-I** betrug im arteriellen Blut bei den Knaben  $61 \pm 29$  ng/ml (22-127), im venösen Blut  $55 \pm 24$  ng/ml (22-113) und im mütterlichen Blut  $180 \pm 64$  ng/ml (33-294), bei den Mädchen entsprechend  $68 \pm 25$  ng/ml (28-153),  $62 \pm 24$  ng/ml (25-128) bzw.  $169 \pm 66$  ng/ml (78-365).

Die **IGF-II**-Spiegel wurden von mir bei den Knaben in einer mittleren Serumkonzentration von  $450 \pm 75$  ng/ml (336-653) im arteriellen Blut gemessen, im venösen Blut betrugen sie  $466 \pm 84$  ng/ml (338-684), im mütterlichen Blut  $817 \pm 182$  ng/ml (485-1193), entsprechend bei den Mädchen  $447 \pm 74$  ng/ml (302-615),  $465 \pm 81$  ng/ml (219-707) bzw.  $736 \pm 259$  ng/ml (403-1643).

Bei den Bindungsproteinen ergaben meine Messungen für **IGFBP-1** bei den Jungen im arteriellen Blut Serumspiegel von  $117 \pm 68$  ng/ml (31-376), im venösen Blut  $106 \pm 67.3$  ng/ml (28-332) und bei den mütterlichen Serumproben  $109 \pm 54$  ng/ml (15-260). Entsprechend konnte ich bei den Mädchen Werte für IGFBP-1 von  $129 \pm 93$  ng/ml (32-447) im arteriellen Blut messen, im venösen Blut ergaben die Werte  $113 \pm 98$  ng/ml (24-539) und im mütterlichen Blut  $124 \pm 52$  ng/ml (41-261).

Für **IGFBP-2** ergaben sich wiederum bei den Jungen im arteriellen Blut Serumspiegel von  $787 \pm 318$  ng/ml (237-1662), im venösen Blut  $869 \pm 381$  ng/ml (205-1675) und bei den mütterlichen Proben  $80 \pm 79$  ng/ml (39-447), bei den Mädchen  $665 \pm 347$  ng/ml (213-1780),  $759 \pm 374$  ng/ml (216-2029) und  $81 \pm 48$  ng/ml (24-279).

Für **IGFBP-3** schließlich konnte ich im arteriellen Serum von Knaben Konzentrationen von  $1023 \pm 247$  ng/ml (600-1598) messen, im venösen Serum  $1030 \pm 245$  ng/ml (573-1652) und bei den Müttern Werte von  $4132 \pm 1084$  ng/ml (926-5964). Bei den Mädchen ergaben die Werte  $1164 \pm 233$  ng/ml (834-2063),  $1102 \pm 327$  ng/ml (430-2108) bzw.  $4001 \pm 946$  ng/ml (2353-6957).

Wichtig ist anzumerken, daß man, nach den Ergebnissen der durchgeführten Tests auf Normalverteilung, mit Ausnahmen bei keinem der gemessenen Parameter, weder im logarithmierten noch im unlogarithmierten Zustand, von einer Normalverteilung der Daten ausgehen kann. Übersichtlich sind alle gemessenen Ergebniswerte nochmals in Tabelle 12 aufgeführt.

**Tabelle 12.** Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 bei männlichen und weiblichen Neugeborenen am Termin (in ng/ml)

		IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3
männlich	arteriell	61 ± 29	450 ± 75	116 ± 68	<b>787 ± 318</b>	<b>1023 ± 247</b>
		22-127	336-653	31-376	237-1662	600-1598
		36	36	36	36	36
	venös	55 ± 24	466 ± 84	106 ± 67	869 ± 381	1030 ± 245
		22-112.9	338-684	27.7-332	205-1675	573-1652
		37	37	37	37	37
	maternal	180 ± 64	<b>817 ± 182</b>	109 ± 53	80 ± 79	4132 ± 1084
		33-294	485-1193	15-260	39-447	926-5964
		26	26	26	26	26
weiblich	arteriell	68 ± 25	447 ± 74	129 ± 93	<b>665 ± 347</b>	<b>1164 ± 233</b>
		28-153	302-615	32-447	213-1780	834-2063
		47	47	47	47	47
	venös	62 ± 24	465 ± 81	113 ± 98	759 ± 374	1102 ± 327
		25-128	219-708	24-539	216-2029	430-2108
		51	51	51	51	51
	maternal	169 ± 66	<b>736 ± 259</b>	124 ± 52	81 ± 48	4001 ± 946
		78-365	403-1643	41-261	24-279	2353-6957
		43	43	43	42	43

alle Angaben in Mittelwert ± Standardabweichung, Spannbreite und Probenanzahl, die **hervorgehobenen Ergebnisse** weisen möglicherweise geschlechtsspezifische Unterschiede in ihren Serumkonzentrationen auf (siehe unten).

#### 4.3 Prüfung auf geschlechtsspezifische Unterschiede der gemessenen Serumkonzentrationen von IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 im arteriellen und venösen Nabelschnurblut und im maternalen Blut bei Termingeborenen

Bei fast allen untersuchten Parametern konnte weder durch den Wilcoxon-Rangsummentest für ungepaarte Stichproben noch durch den Mediantest ein wesentlicher geschlechtsspezifischer Unterschied in den Serumkonzentrationen von IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 im arteriellen, venösen oder maternalen Blut gefunden werden. Gewählt wurden diesen beiden Tests, weil sie von der Verteilung der untersuchten Parameter unabhängig sind. Lediglich bei **den mütterlichen IGF-II-** und den **kindlichen arteriellen IGFBP-2-Werten** mit im Schnitt bei den Knaben erhöhten Konzentrationen und bei den **kindlichen arteriellen IGFBP-3-Werten**, wo es im Mittel bei den Mädchen zu höheren Serumspiegeln kam, ist bei meinen Daten ein vom Geschlecht abhängiger Unterschied der mittleren Serumkonzentrationen nachzuweisen. Angedeutet sieht man auch bei den kindlichen arteriellen IGF-I-Werten ein den IGFBP-3-Werten analoges Überwiegen der mittleren weiblichen Serumspiegel über die männlichen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind übersichtlich in Tabelle 13 aufgeführt.

#### 4.4 Korrelationen zwischen dem Plazentagewicht und den Parametern des IGF/IGFBP-Systems im kindlichen arteriellen und venösen Nabelschnurblut bzw. im maternalen Blut zum Zeitpunkt der Geburt

Es wurde auf Grund der nicht normalverteilten Daten der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient zur Analyse möglicher Zusammenhänge zwischen dem Plazentagewicht und den verschiedenen Parametern in den unterschiedlichen Kompartimenten gewählt. Dabei ergab sich bei den Knaben bei keiner der Berechnungen ein Hinweis auf einen auf dem 5%-Niveau signifikanten Zusammenhang.

Bei den Mädchen konnten Hinweise auf einen solchen Zusammenhang bei den **arteriellen IGF-I-Werten** gefunden werden ( $r = 0.40$ ,  $p < 0.02$ ,  $n = 34$ ), weiterhin bei den **mütterlichen IGFBP-2-Werten** ( $r = 0.38$ ,  $p < 0.044$ ,  $n = 29$ ) und den **venösen IGFBP-3-Werten** ( $r = 0.34$ ,  $p < 0.37$ ,  $n = 37$ ) (vgl. Tabelle 14).

**Tabelle 13. Wilcoxon-Rangsummentest für ungepaarte Stichproben (Spalten 2, 3) und Mediantest (Spalten 4, 5) zur Prüfung auf geschlechtsspezifische Unterschiede der arteriellen, venösen und maternalen Serumkonzentrationen bei Termingeborenen**

		Z	Prob> Z	Z	Prob> Z
IGF-I	mat.	1.10	0.27	0.59	0.56
	ven.	-1.50	0.13	-0.64	0.52
	art.	<b>-1.82</b>	<b>0.07</b>	<b>-1.67</b>	<b>0.10</b>
IGF-II	mat.	<b>2.25</b>	<b>0.025</b>	<b>2.07</b>	<b>0.04</b>
	ven.	-0.20	0.84	-0.64	0.52
	art.	0.16	0.87	0.10	0.92
IGFBP-1	mat.	-1.08	0.28	0.09	0.93
	ven.	0.00	1.00	0.22	0.83
	art.	-0.23	0.82	0.54	0.59
IGFBP-2	mat.	-1.07	0.28	-0.99	0.32
	ven.	1.52	0.13	0.64	0.52
	art.	<b>2.15</b>	<b>0.032</b>	<b>2.30</b>	<b>0.022</b>
IGFBP-3	mat.	0.87	0.38	1.08	0.28
	ven.	-0.84	0.40	0.22	0.83
	art.	<b>-2.80</b>	<b>0.005</b>	<b>-2.99</b>	<b>0.003</b>

Stichprobenumfänge:    maternal    m = 26, w = 43  
                                   venös        m = 37, w = 51  
                                   arteriell    m = 36, w = 47

#### **4.5 Erfahren die arteriellen IGF-I-, IGF-II-, bzw. IGFBP-1-, IGFBP-2- und IGFBP-3-Werte während ihres Plazentadurchflusses eine wesentliche Konzentrationsänderung ?**

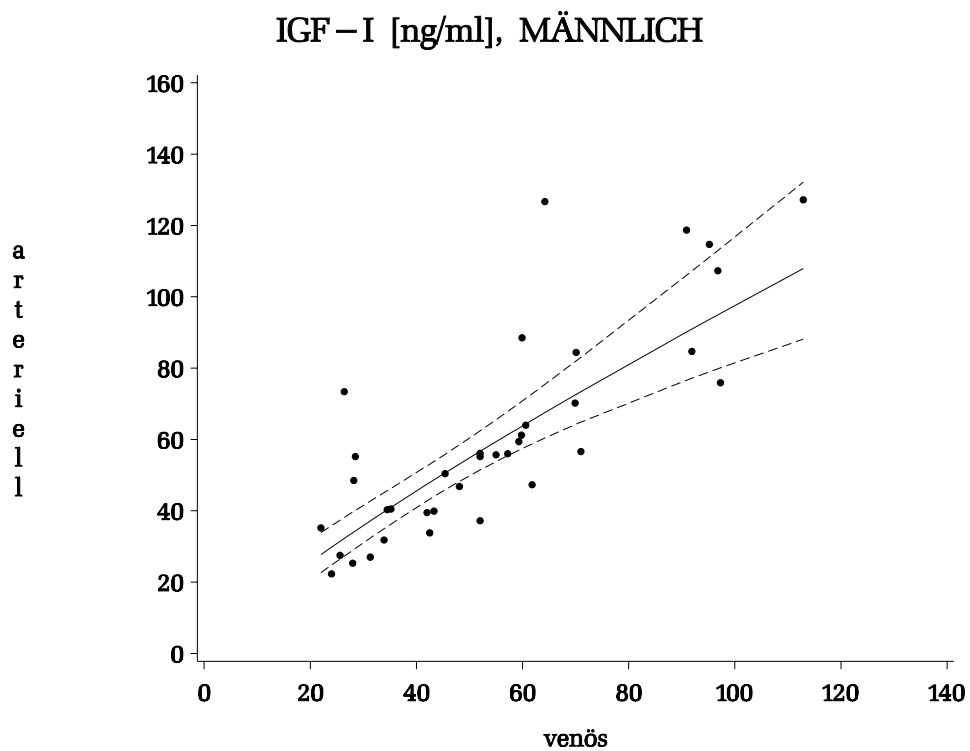
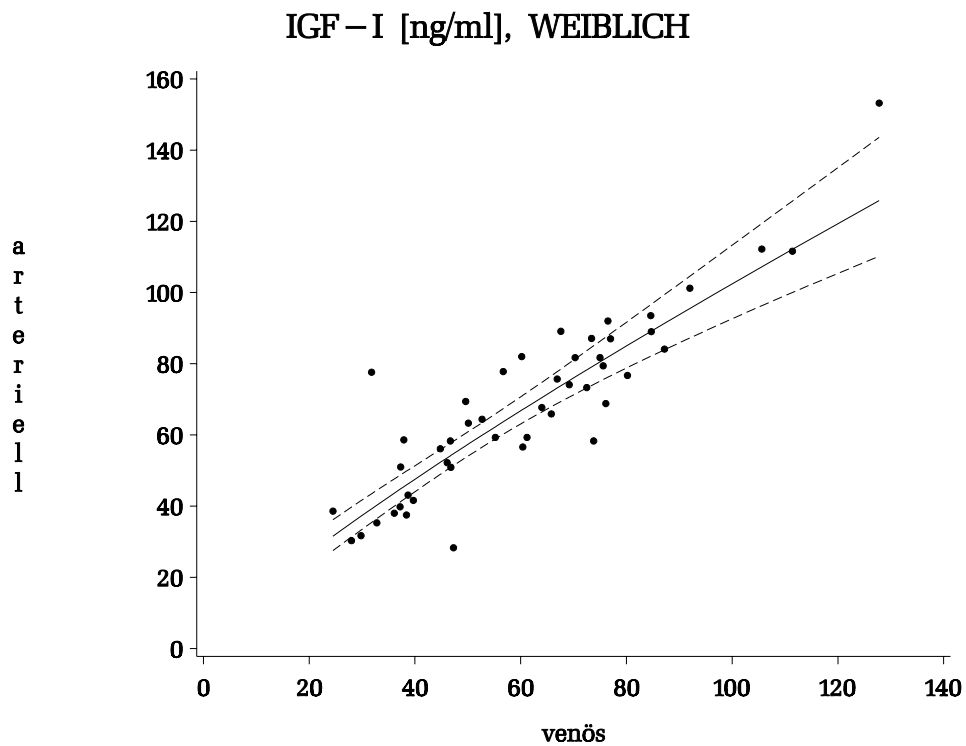
Um auf diese Frage mit Hilfe statistischer Analysemethoden eine Antwort zu finden, wurden für die jeweiligen arteriellen und venösen Werte in ihrer logarithmierten Form eine Regression berechnet. Sollten die jeweiligen Konzentrationen nur sehr geringe Änderungen während des Plazentadurchflusses erfahren, dann wäre eine sehr deutliche Korrelation der jeweiligen arteriellen und venösen Werte zu erwarten. Es zeigte sich bei den Mädchen wie bei den Knaben nur für die IGF-I-, IGFBP-1- und IGFBP-2-Werte diese enge Korrelation zwischen den entsprechenden arteriellen und venösen Parametern. Wesentlich geringer stellten sich die gegenseitigen Abhängigkeiten der arteriellen und venösen Parameter sowohl bei den Mädchen wie bei den Jungen für IGF-II und IGFBP-3 dar (vgl. Tabelle 15, Abbildungen 1 bis 4).

**Tabelle 14.** Korrelationen von Plazentagewicht mit den IGF/ IGFBP-Serumkonzentrationen in arteriellem, venösem und maternalen Blut bei Termingeborenen

			IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3
weiblich	art.	r =	<b>0.40</b>	0.26	-0.016	-0.083	0.14
		p <	<b>0.02</b>	0.13	0.93	0.64	0.44
		n =	<b>34</b>	34	34	34	34
	ven.	r =	0.19	0.26	0.037	-0.072	<b>0.34</b>
		p <	0.26	0.12	0.83	0.67	<b>0.037</b>
		n =	37	37	37	37	<b>37</b>
	mat.	r =	0.16	0.066	0.22	<b>0.38</b>	0.16
		p <	0.39	0.73	0.24	<b>0.044</b>	0.39
		n =	30	30	30	<b>29</b>	30
männlich	art.	r =	0.29	-0.11	-0.030	-0.29	-0.024
		p <	0.18	0.62	0.89	0.17	0.91
		n =	23	23	23	23	23
	ven.	r =	0.077	-0.30	0.034	-0.33	-0.029
		p <	0.72	0.15	0.87	0.12	0.89
		n =	24	24	24	24	24
	mat.	r =	-0.19	0.047	-0.27	0.11	-0.072
		p <	0.49	0.87	0.33	0.70	0.80
		n =	15	15	15	15	15

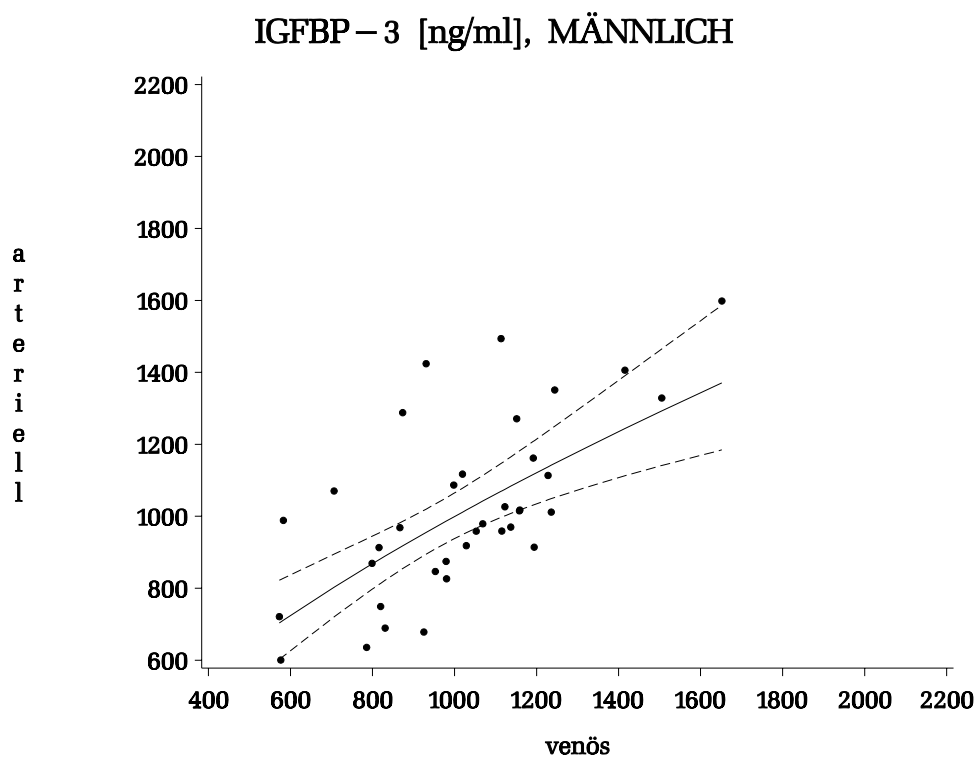
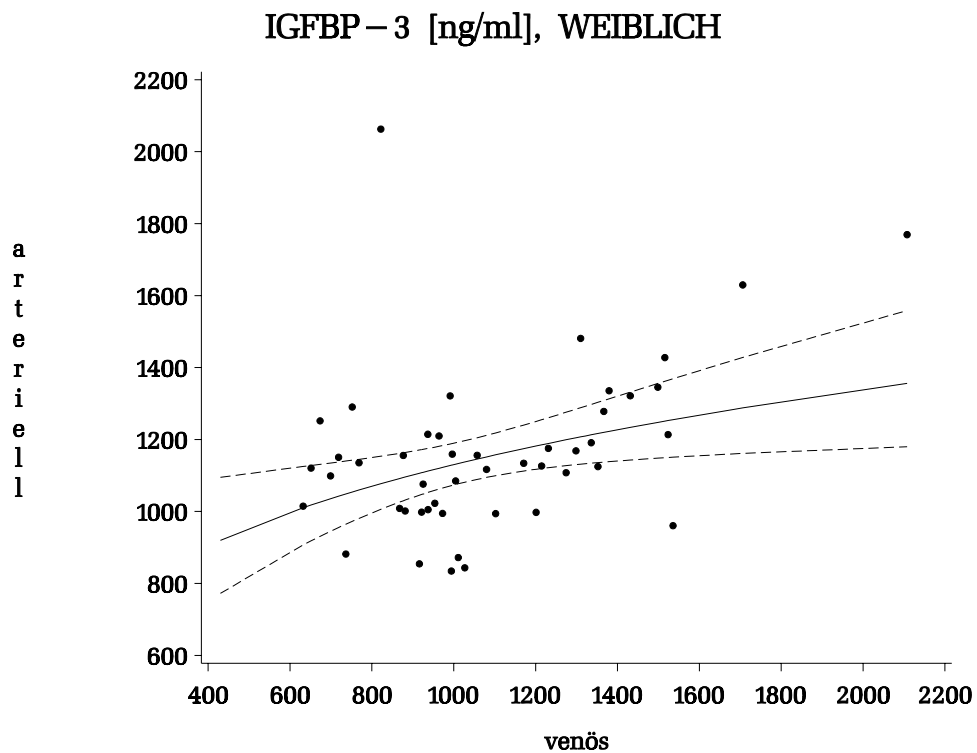
**Tabelle 15.** Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln bei Termingeborenen

		Prob > F p <	Bestimmt- heitsmaß	Achsen- abschnitt	Steigung
weiblich (n=46)	IGF-I	<b>0.001</b>	<b>0.74</b>	0.153	0.887
	IGF-II	<b>0.0011</b>	<b>0.21</b>	1.23	0.541
	IGFBP-1	<b>0.001</b>	<b>0.81</b>	0.044	0.945
	IGFBP-2	<b>0.001</b>	<b>0.69</b>	0.61	0.801
	IGFBP-3	<b>0.011</b>	<b>0.13</b>	1.35	0.548
männlich (n=35)	IGF-I	<b>0.001</b>	<b>0.64</b>	0.36	0.77
	IGF-II	<b>0.002</b>	<b>0.25</b>	1.20	0.552
	IGFBP-1	<b>0.001</b>	<b>0.82</b>	-0.04	0.996
	IGFBP-2	<b>0.001</b>	<b>0.66</b>	0.21	0.935
	IGFBP-3	<b>0.001</b>	<b>0.42</b>	1.00	0.665



**Abbildung 1 und 2:** Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln von IGF-I bei weiblichen und männlichen Termingeborenen





**Abbildung 3 und 4:** Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen

#### 4.6 Kommt es in der Plazenta zu einem nachweisbaren Austausch zwischen mütterlichen und kindlichen IGF-I, IGF-II bzw. IGFBP-1, IGFBP-2 oder IGFBP-3 ?

Mathematisch haben wir mit Hilfe wiederum des verteilungsunabhängigen Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten versucht, dieses Problem über eine Berechnung von Korrelationen zwischen den arteriellen und venösen Serumkonzentrationen bzw. der arteriovenösen Differenz der einzelnen Parameter im kindlichen Blut mit den jeweiligen mütterlichen Werten zu erfassen. Mit der einfachen Korrelation kindlicher Serumkonzentrationen (arteriell wie venös) mit den mütterlichen Werten soll die Hypothese überprüft werden, daß die Konzentrationen der kindlichen arteriellen Faktoren einen Einfluß auf die mütterlichen Faktorkonzentrationen haben bzw. daß mütterliche Serumwerte die entsprechenden kindlichen venösen beeinflussen. Ob diese möglichen wechselseitigen Einflüsse physiologisch auf direktem Weg z. B. durch einfache transplazentäre Diffusion erfolgen oder indirekt über weitere dazwischenliegende biochemische und zellphysiologische Vorgänge, kann anhand der Berechnungen jedoch sicher nicht differenziert werden. Die Korrelation der kindlichen arteriovenösen Differenzen der jeweiligen Faktorserumkonzentrationen mit den mütterlichen Werten soll folgende Hypothese überprüfen: die beim plazentären Durchfluß im kindlichen Blut stattfindenden Konzentrationsänderungen der IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine (arteriovenöse Differenzen, positive und negative Ergebnisse möglich) bedingen im mütterlichen Kompartiment jeweils einen entsprechenden Konzentrationsanstieg bzw. -abfall im Serum. Ob dies direkt oder indirekt durch Vermittlung biochemischer Zwischenschritte stattfindet, ist auch hier wiederum mit den mathematischen Methoden nicht zu klären.

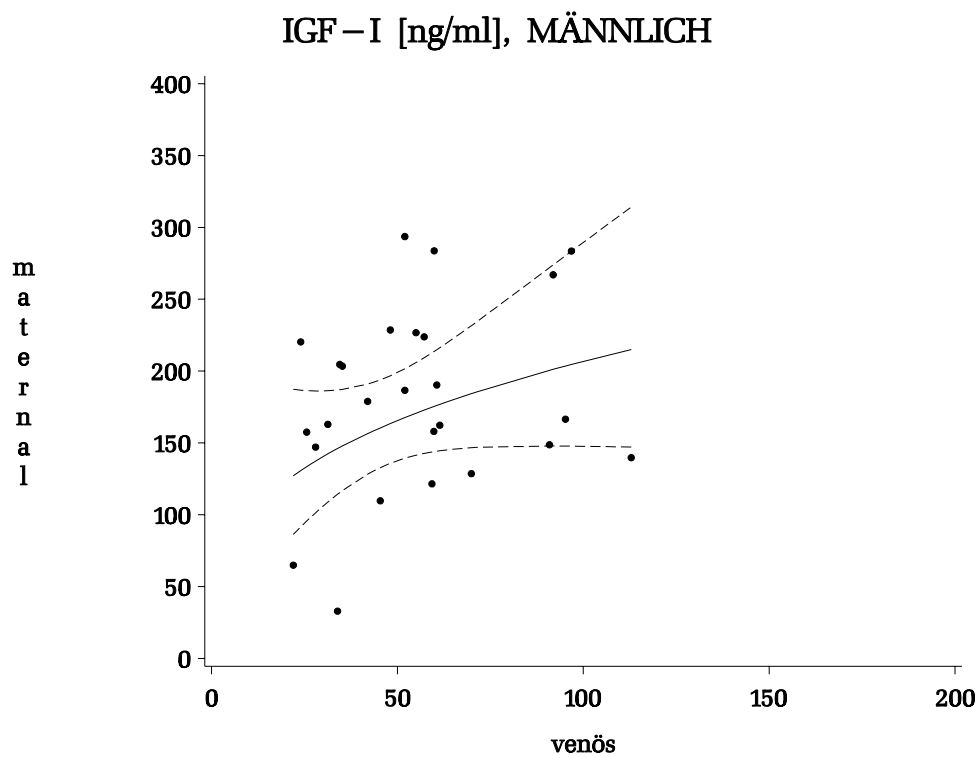
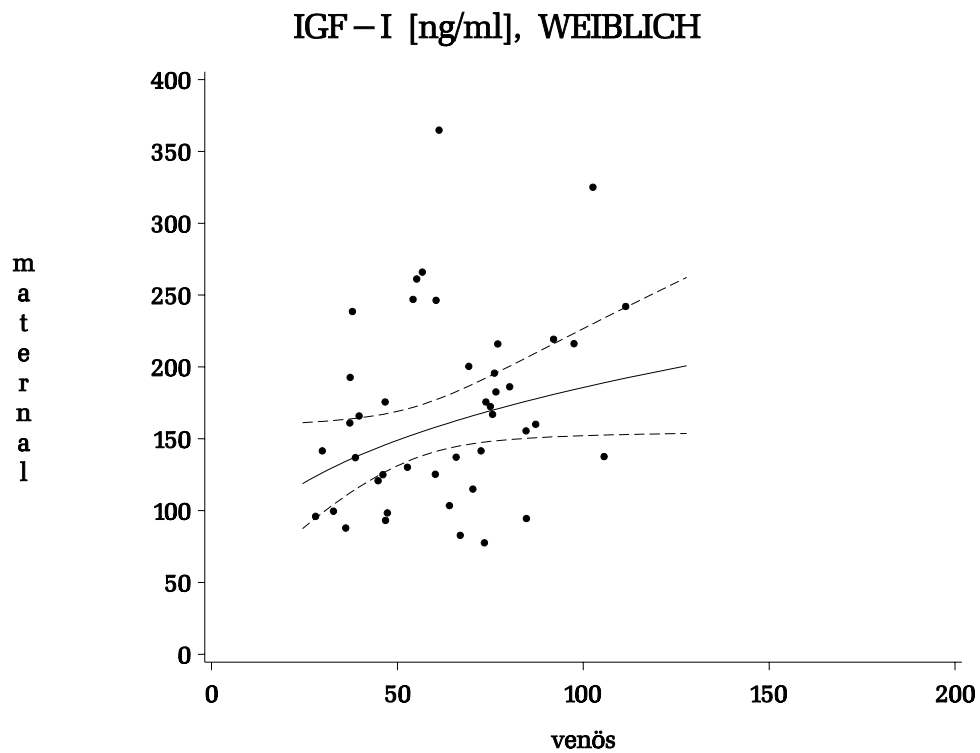
Es zeigten sich bei den männlichen Werten ausnahmslos nur eine sehr geringe bis gar keine Tendenz zu einem solchen transplazentären Austausch, bei den **weiblichen** Werten könnte es nach unserem mathematischen Modell möglicherweise zu einem Austausch von kindlichen und mütterlichen **IGF-I, IGF-II und IGFBP-3** gekommen sein. Nach der Betrachtung der Streudiagramme könnte dieser mathematisch errechnete Zusammenhang aber auch durch die zwei bis drei ausreißenden Wertepaare verursacht worden sein (vgl. Tabelle 16 und 17, Abbildungen 5 bis 10).

**Tabelle 16.** Regressionsanalyse der arteriovenösen Spiegeldifferenzen mit den maternalen Serumkonzentrationen der Komponenten des IGF/ IGFBP-Systems bei Termingeborenen

		Prob > F p <	Bestimmtheitsmaß	Achsenabschnitt	Steigung
weiblich (n=42)	IGF-I	<b>0.015</b>	<b>0.14</b>	<b>22.7</b>	<b>-0.14</b>
	IGF-II	<b>0.06</b>	<b>0.087</b>	<b>75.4</b>	<b>-0.17</b>
	IGFBP-1	0.58	0.0074	16.8	-0.09
	IGFBP-2	0.63	0.006	-175.6	0.38
	IGFBP-3	<b>0.003</b>	<b>0.19</b>	<b>875.9</b>	<b>-0.23</b>
männlich (n=25)	IGF-I	0.71	0.006	-1.04	0.019
	IGF-II	0.18	0.074	91.4	-0.18
	IGFBP-1	0.17	0.078	20	-0.14
	IGFBP-2	0.14	0.088	-71.5	-1.04
	IGFBP-3	0.55	0.015	86.6	-0.04

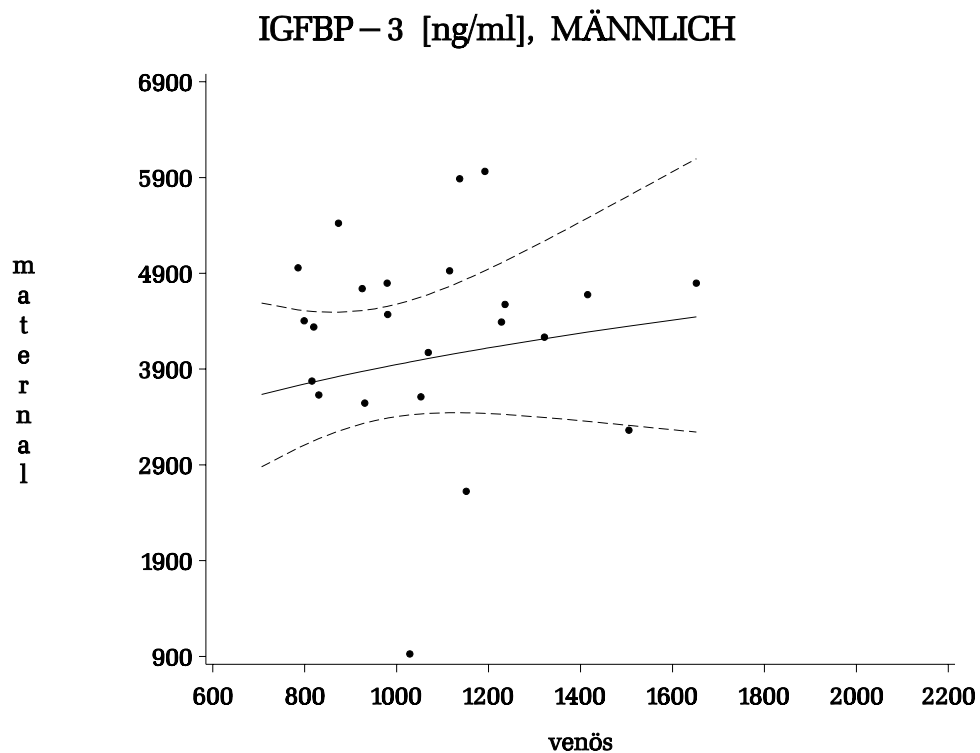
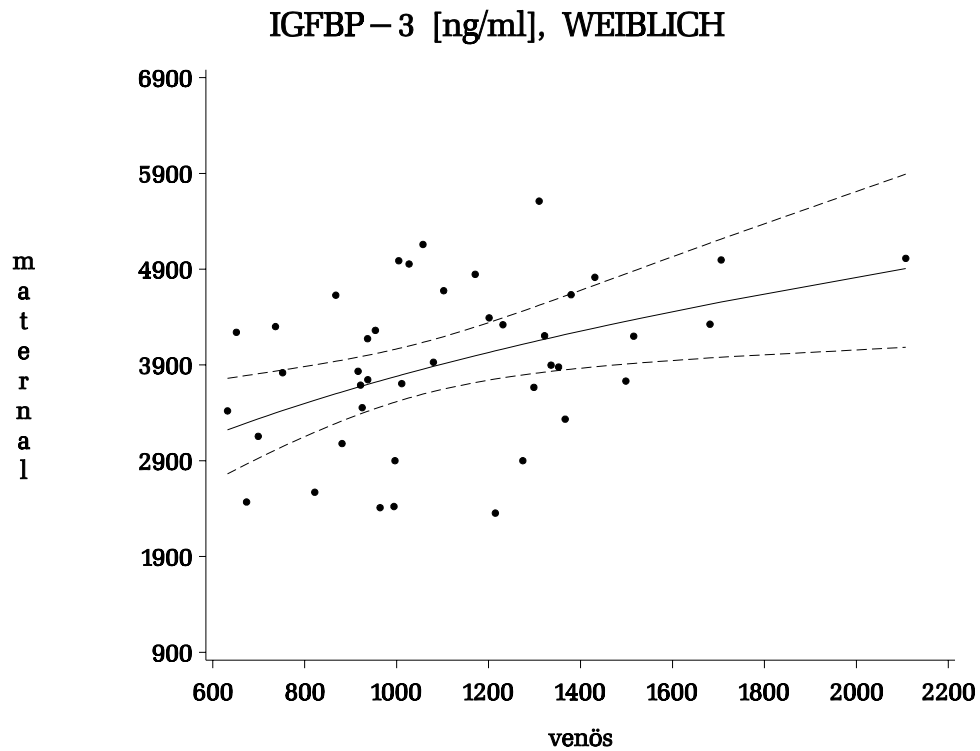
**Tabelle 17.** Regressionsanalyse der logarithmierten venösen bzw. arteriellen mit den maternalen Serumkonzentrationen der IGF/ IGFBPs bei Termingeborenen

		Prob > F p <	Bestimmtheitsmaß	Achsenabschnitt	Steigung
<b>VENÖS</b>					
weiblich (n=42)	IGF-I	<b>0.05</b>	<b>0.09</b>	<b>1.15</b>	<b>0.28</b>
	IGF-II	0.17	0.05	2.28	0.13
	IGFBP-1	<b>0.05</b>	<b>0.09</b>	<b>1.05</b>	<b>0.48</b>
	IGFBP-2	0.49	0.01	2.66	0.10
	IGFBP-3	<b>0.01</b>	<b>0.16</b>	<b>1.42</b>	<b>0.45</b>
männlich (n=25)	IGF-I	0.12	0.10	1.03	0.30
	IGF-II	0.31	0.04	2.19	0.16
	IGFBP-1	0.91	0.001	2.00	-0.02
	IGFBP-2	<b>0.09</b>	<b>0.12</b>	<b>2.28</b>	<b>0.35</b>
	IGFBP-3	0.37	0.03	2.49	0.14
<b>ARTERIELL</b>					
weiblich (n=39)	IGF-I	<b>0.095</b>	<b>0.07</b>	<b>1.23</b>	<b>0.26</b>
	IGF-II	0.44	0.02	2.45	0.07
	IGFBP-1	<b>0.07</b>	<b>0.08</b>	<b>1.21</b>	<b>0.39</b>
	IGFBP-2	0.94	0.00	2.75	0.01
	IGFBP-3	0.71	0.00	2.88	0.05
männlich (n=24)	IGF-I	0.19	0.07	1.10	0.28
	IGF-II	0.82	0.00	2.55	0.03
	IGFBP-1	0.65	0.01	2.16	-0.09
	IGFBP-2	0.20	0.07	2.38	0.26
	IGFBP-3	0.69	0.01	2.77	0.06

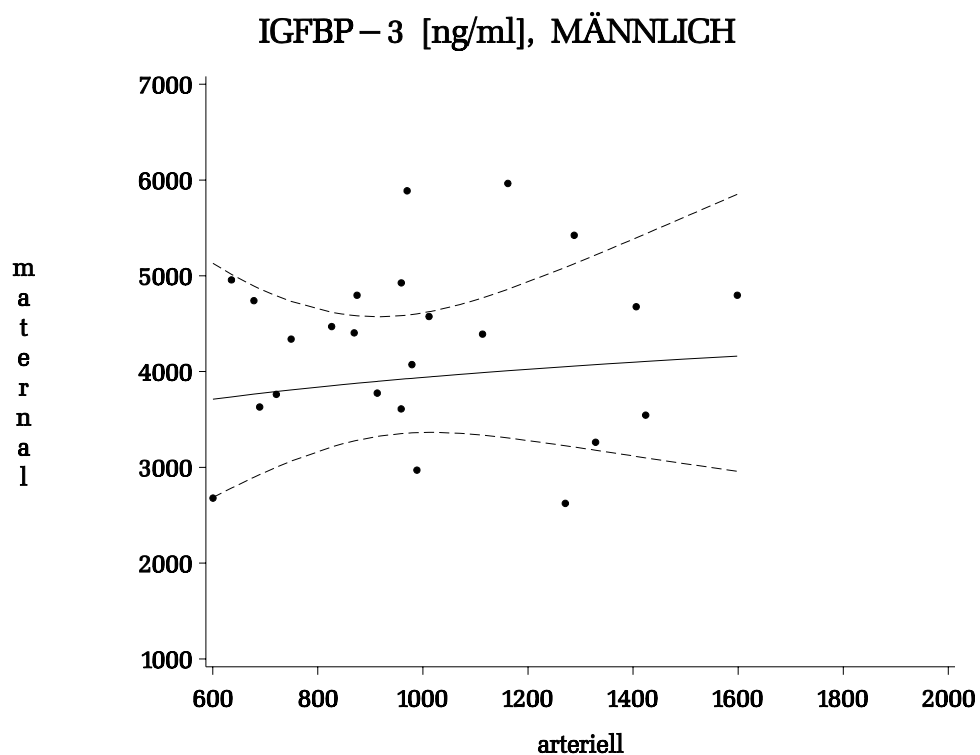
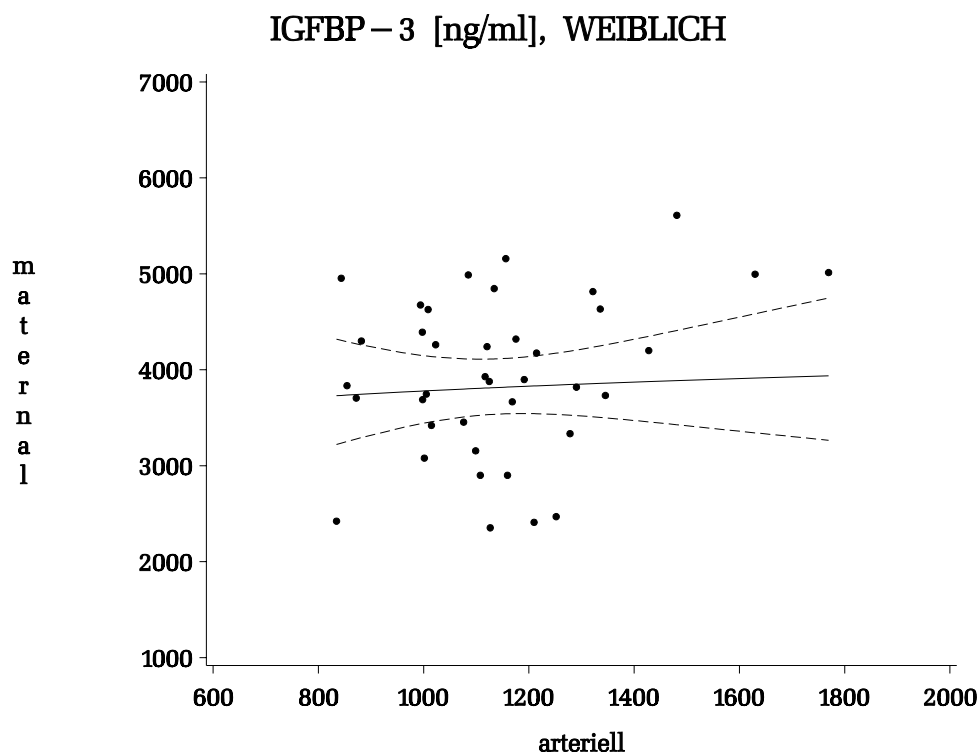


**Abbildung 5 und 6:**

**Regressionsanalyse der logarithmierten venösen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGF-I bei weiblichen und männlichen Termingeborenen**



**Abbildung 7 und 8:** Regressionsanalyse der logarithmierten venösen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen



**Abbildung 9 und 10:** Regressionsanalyse der logarithmierten arteriellen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen

## 5 DISKUSSION

Das intrauterine Wachstum und die Entwicklung des Föten werden durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. So hängt das kindliche Geburtsgewicht von der Schwangerschaftsdauer und der fetalen Wachstumsrate ab. Erbanlagen, Nährstoffangebot, intrauterine Infektionen, toxische Schädigungen des Feten, bestimmte Krankheitsumstände der Mutter (Schwangerschaftsbluthochdruck, Präeklampsie, HELLP-Syndrom, Schwangerschaftsdiabetes, Rauchen, bestimmte Infektionen) und der Zustand der Plazenta (funktionelle Plazentainsuffizienz, Plazentainfarkte u. a.) spielen hierbei eine zentrale Rolle (6, 41). Interessanterweise hat man bis heute kein eindeutig endokrin wirkendes System entdeckt, das für das Wachstum und die intrauterine Entwicklung eine ähnliche Rolle spielt wie z. B. die Wachstumshormon-IGF/ IGFBP-Achse postnatal (5, 41, 65). Seit neuerem wird allerdings von einigen Autoren dem hPL eine derartige Funktion zugesprochen (37).

Die aktuellen Forschungen konzentrieren sich besonders auf die auto- und parakrin ablaufenden Wirkmechanismen, die bei Zellwachstum, Zelldifferenzierung und Organentwicklung des heranwachsenden Feten wesentlich beteiligt sind. Meist handelt es sich bei diesen Stoffen um sogenannte Wachstumsfaktoren und hierbei vor allem um die IGFs und ihre Bindungsproteine.

### 5.1 Serumspiegel für IGF-I, IGF-II sowie IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 bei männlichen und weiblichen Neugeborenen am Termin

Für die IGFs und ihre Bindungsproteine wurden für die verschiedensten Alters- und Entwicklungsstufen der Kindheit in unserer westlichen Population mittlere Serumkonzentrationen im venösen Blut ermittelt (30, 57, 60). In Bezug auf Neugeborene existieren ebenfalls schon eine Vielzahl von Veröffentlichungen, in denen man versuchte, Durchschnittswerte für die genannten Faktoren im Nabelschnurblut am Geburtstermin zu erstellen (10, 11, 22, 32, 39, 44, vgl. Tabelle 18). Allerdings wurde dabei immer nur venöses Blut untersucht, Spiegelbestimmungen im arteriellen Nabelschnurblut wurden nur in einer Arbeit durchgeführt. Dabei wurde für alle Faktoren des IGF/ IGFBP-Systems (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3) keine Differenz der Serumspiegel im arteriellen im Vergleich zum venösen Serum gefunden (32). Beim Vergleich meiner Ergebnisse mit den bislang veröffentlichten Arbeiten zeigt sich insgesamt eine relativ gute Übereinstimmung der gemessenen Werte trotz der z. T. sehr unterschiedlicher Meßmethoden. Eine Ausnahme bilden

lediglich die Ergebnisse der Studie von Lewitt (32), bei der vergleichsweise niedrige IGF-II-Spiegel und relativ hohe IGFBP-1-Spiegel gemessen wurden. Grund dafür könnten die angewandten unterschiedlichen Meßmethoden oder die etwas inhomogene Zusammensetzung der Probanden sein, da Serum von Kindern der 22.-40. Schwangerschaftswoche verwendet wurde. Allerdings widerspricht diese Argumentation Ergebnissen von Giudice (10), die keine, von der Schwangerschaftsdauer abhängige Veränderung der IGF-II-Spiegel beim Feten nachweisen konnte. Die Bestimmung der IGFBP-1-Werte beim Neugeborenen hängt sehr stark von dem während der Geburt durchgemachten Streß des Kindes ab, z. B. im Rahmen eines protrahierten Geburtsverlaufes oder einer sekundären Sektio, und ist somit sehr leicht beeinflussbar (13, 49, 61).

Weniger ausführliche Literatur existiert über die Höhe der IGF/ IGFBP-Spiegel im maternalen Kompartiment zum Zeitpunkt der Geburt. Meist wurden IGF-I- und die IGFBP-1-Werte ermittelt, z. T. IGF-II-Spiegel, selten IGFBP-3-Werte. Auch hier findet man wie bei den venösen kindlichen Werten eine große Übereinstimmung der Ergebnisse mit den eigenen Werten (vgl. Tabelle 19) mit Ausnahme der sehr hohen IGF-I-Werte in den Untersuchungen von Kazer (55) und den erhöhten IGFBP-1-Werten bei Wang (47) und Hills (13). Es dürfen dafür vermutlich ebenfalls die verschiedenen methodischen Voraussetzungen und eventuell die hohen, oben bereits erwähnten, situationsbedingten Schwankungen der IGFBP-1-Spiegel um den Geburtszeitpunkt verantwortlich gemacht werden, eine genauere Differenzierung der Unterschiede aus der Literatur heraus ist nicht möglich (13, 22, 23, 24, 26, 47, 55).

## **5.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede der Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 im arteriellen und venösen Nabelschnurblut und im maternalen Blut bei Termingeborenen**

In der Literatur wurde bei der Bestimmung der IGF/IGFBPs im Nabelschnurblut bzw. im mütterlichen Blut nur sehr selten eine Differenzierung nach dem Geschlecht der Neugeborenen vorgenommen.

Bei den eigenen Untersuchungen zeigte sich bei den **mütterlichen IGF-II**-Werten und bei den **kindlichen arteriellen IGFBP-2- und IGFBP-3**-Werten ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied der gemessenen Serumkonzentrationen. Es wurden bei den männlichen Neugeborenen höhere maternale IGF-II- und arterielle IGFBP-2-Werte gemessen, während umgekehrt die arteriellen IGFBP-3-Werte bei den Mädchen höher ausfielen (vgl. Tabelle 12, 13).



**Tabelle 18.** Literaturvergleich von Serumkonzentrationen der IGFs und der IGFBPs im venösen Nabelschnurblut bei Termingeborenen (alle Angaben in ng/ml)

		eigene Werte	Hall 1986 (22)	Langford 1994 (11)	Giudice 1995 (10)	Barrios 1996 (39)	Lewitt 1995 (32)	Klauwer 1997 (44)
<b>IGF-I</b>	<b>m</b>	55 ± 24	82 (m+w)	36 ± 2	76 ± 16	78 ± 57	74 ± 12	61 ± 21
	<b>w</b>	62 ± 24	(31-120)	(m+w)	(m+w)	108 ± 76	(m+w)	(m+w)
<b>IGF-II</b>	<b>m</b>	466 ± 84	289 (m+w)	---	401 ± 38	---	158 ± 42	466 ± 80
	<b>w</b>	465 ± 81	(174-430)		(m+w)		(m+w)	(m+w)
<b>IGFBP-1</b>	<b>m</b>	106 ± 67	91 (m+w)	117 ± 25	77 ± 10	64 ± 46	280 ± 121	144 ± 110
	<b>w</b>	113 ± 98	(34-304)	(m+w)	(m+w)	47 ± 32	(m+w)	(m+w)
<b>IGFBP-2</b>	<b>m</b>	869 ± 381	---	792 ± 27	---	---	805 ± 56	1165 ± 455
	<b>w</b>	759 ± 374		(m+w)			(m+w)	(m+w)
<b>IGFBP-3</b>	<b>m</b>	1030 ± 245	---	848 ± 20	700 ± 112	1180 ± 450	1010 ± 40	1272 ± 280
	<b>w</b>	1102 ± 327		(m+w)	(m+w)	1360 ± 590	(m+w)	(m+w)

**Tabelle 19.** Literaturvergleich von Serumkonzentrationen der IGFs und der IGFBPs im maternalen Blut zum Geburtszeitpunkt (alle Angaben in ng/ml)

	IGF-I	IGF-II	IGFBP-1	IGFBP-2	IGFBP-3
<b>eigene Werte:</b>					
<b>männl.</b>	180 ± 64	817 ± 182	109 ± 53	80 ± 79	4132 ± 1084
<b>weibl.</b>	169 ± 66	736 ± 259	124 ± 52	81 ± 48	4001 ± 946
<b>Susa, 1984 (24)</b>	209 ± 52	550 ± 106	---	---	---
<b>Hall, 1986 (22)</b>	347 (152-633)	---	113 (58-281)	---	---
<b>Kazer, 1991 (55)</b>	533 ± 45	---	---	---	---
<b>Kubota, 1991(26)</b>	140 ± 9	986 ± 42	---	---	---
<b>Wang, 1993 (47)</b>	221 ± 30	---	219 ± 9	---	---
<b>Hills, 1996 (13)</b>	---	---	244 (74-920)	---	---
<b>Larsen, 1996 (23)</b>	269	---	113	---	5521

### 5.2.1 Maternale IGF-II

Die Regulationsvorgänge, die den IGF-II-Spiegel im Serum beeinflussen, sind nach wie vor nur sehr unzureichend bekannt (29, 34). Man weiß, daß die IGF-II-Spiegel sehr eng verbunden mit den IGFBP-3-Spiegeln schwanken, zumindest im Serum von Erwachsenen (2). Dafür ist die Bindung der IGF-II-Moleküle an dieses Hauptbindungsprotein verantwortlich, das einen zu raschen Abbau der IGF-II verhindert. Bei den von mir gemessenen maternalen IGFBP-3-Werten, dem Hauptbindungsprotein für die IGFs auch bei schwangeren Frauen, und bei den maternalen IGFBP-1 und -2-Werten scheint ein geschlechtsabhängiger Unterschied ähnlich dem der gemessenen maternalen IGF-II-Werte wenig wahrscheinlich zu sein (vgl. Tabelle 13), so daß eine Erklärung über diesen Regulationsvorgang nicht gelingt. In einer Untersuchung bei Schwangeren wurden ebenfalls keine geschlechtsspezifischen Differenzen maternaler IGFBP-1-Werte gefunden (49). Es sind für den nachgewiesenen Unterschied möglicherweise andere Faktoren mitverantwortlich.

Eine Beeinflussung der mütterlichen IGF-II-Spiegel könnte geschlechtsspezifisch durch Sexualsteroiden (Androgene und Östrogene) erfolgen. So findet man bei männlichen im Vergleich zu weiblichen Neugeborenen höhere Testosteron-Spiegel (33, 91). Östrogene findet man hingegen bei weiblichen und männlichen Neugeborenen in ähnlich hohen Serumkonzentrationen vor (91). Allerdings ist eine Regulation der IGF-II durch Sexualsteroiden bislang nicht nachgewiesen worden. Juul et al. konnte in seiner großangelegten Studie bei sehr kleinen Kindern bis hin zu Adoleszenten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede der venösen Serum-IGF-II-Spiegel nachweisen. Die Spiegel waren im Gegenteil sogar von der frühen Kindheit an bis nach der Pubertät weitgehend konstant und v. a. bei beiden Geschlechtern unabhängig von der Pubertätsentwicklung, wo doch bei Knaben und Mädchen in dieser Zeit geschlechtsbedingt unterschiedliche Hormonhaushalte nachgewiesen wurden (30).

IGF-II ist bei gesunden Erwachsenen unabhängig vom Wachstumshormon, wird allerdings indirekt über die wachstumshormonabhängige Regulation der IGFBP-3 mitbeeinflusst. Es gibt Hinweise darauf, daß das hypophysäre Wachstumshormon (hGH) während der Schwangerschaft durch eine plazentäre Variante (GH-v) funktionell ersetzt wird (36). Ob dieses GH-v Einfluß auf die IGF-II-Produktion in der mütterlichen Leber hat und ob es geschlechtsspezifisch in unterschiedlicher Höhe sezerniert wird ist nicht bekannt. Ein weiteres plazentäres Hormon, das menschliche Plazenta Lactogen (hPL), früher Chorionsomatotrophin (hCS) genannt, das eine strukturelle

Verwandschaft mit dem hGH hat (37, 38), korreliert eng mit den fetalen IGF-I- und IGF-II-Werten (14), im mütterlichen Kompartiment eng mit dem schwangerschaftsbedingten IGF-I-Anstieg (37). Inwieweit das hPL seinerseits geschlechtsabhängig unterschiedlich exprimiert und sezerniert wird und damit im Gefolge unterschiedliche Spiegelhöhen der IGF-II bei der Mutter mitverursachen könnte, ist ebenfalls unklar.

Als Ursprungsort der mütterlichen IGF-II könnte in der Schwangerschaft auch die Plazenta dienen, in der v. a. auf der fetalen Seite im Zytotrophoblasten große Mengen von IGF-II gefunden wurden (4). Aber auch hier wurde bei den Untersuchungen nicht auf geschlechtsspezifische Konzentrationsunterschiede geachtet. Bei den eigenen Untersuchungen waren die Plazenten der männlichen und weiblichen Probanden im Durchschnitt annähernd gleich schwer. Ein linearer Zusammenhang zwischen mütterlichen IGF-II-Werten und dem jeweiligen Plazentagewicht konnte nicht nachgewiesen werden.

### **5.2.2 Kindliche arterielle IGFBP-3**

Im venösen Kompartiment ließen sich bei sämtlichen Parametern des IGF/ IGFBP-Systems keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede nachweisen. Bei den arteriellen Serumproben hingegen wurden von mir bei den weiblichen Neugeborenen höhere IGFBP-3-Spiegel und niedrigere IGFBP-2-Spiegel im Vergleich mit männlichen Neugeborenen gemessen. Arterielle IGF-I-, IGF-II- und IGFBP-1-Spiegel lagen bei beiden Geschlechtern annähernd gleich hoch.

Für das arterielle Kompartiment lassen sich in der Literatur nur ganz spärlich vergleichbare Untersuchungen finden, eine Trennung nach dem Geschlecht erfolgte meines Wissens in keiner Studie. So müssen denn zur Diskussion v. a. Arbeiten herangezogen werden, die ihr Augenmerk auf einen Geschlechterunterschied der Serumkonzentrationen der IGFs und ihrer Bindungsproteine im venösen Nabelschnurblut richteten. IGF-I- und IGF-II-Spiegel sind im 2. Schwangerschaftstrimenon bei Knaben und Mädchen in etwa gleich hoch (54). Im Alter von 4-7 Jahren postpartal wurden bei Mädchen höhere IGF-I-Werte gefunden (56), ein Befund der sich auch mehrfach bei pubertierenden Kindern und im jungen bis mittleren Erwachsenenalter zeigen ließ (30, 31, 51, 52, 57, 59).

Die IGF-II-Werte steigen post partum von relativ niedrigen Werten im Neugeborenenalter rasch an und sind dann wohl von der frühen Kindheit an bis ins Erwachsenenalter geschlechtsunabhängig etwa gleich hoch und weitgehend konstant (30, 40). Nur bei einer Untersuchung bei erwachsenen Zwillingen fanden sich bei den

weiblichen Probanden höhere IGF-II-Werte im Vergleich zu den untersuchten Männern (59).

Für IGFBP-3 ließ sich während der Pubertät und im jungen Erwachsenenalter zum Teil ein ähnliches Überwiegen der weiblichen Serumspiegel über die männlichen nachweisen wie bei den IGF-I (30, 57, 59). Diesen Ergebnissen stehen andere gegenüber, bei denen keine Geschlechterdifferenz der IGF-I und der IGFBP-3 bzw. nur der IGF-I gefunden wurden (53, 58). Bei 50-80-jährigen Männern und Frauen wurde ebenfalls kein Unterschied der IGF-I und der IGFBP-3 gefunden (40).

Für die IGFBP-1 und IGFBP-2 wurden in der Arbeit von Juul (30) und von Blum (20) bei Knaben und Mädchen von der frühen Kindheit an bis in die Adoleszenz gleich hohe Serumkonzentrationen gemessen. Zu einem ähnlichen Ergebnis führten die Studien an spanischen Kindern von Argente (57). Im Gegensatz dazu stehen Ergebnisse einer Untersuchung von Nystrom (58), wo im Alter von 20 bis 70 Jahren bei Frauen höhere IGFBP-1-Spiegel gefunden wurden als bei Männern gleichen Alters. Diese Resultate müssen aber wegen der kurzfristigen Regulation der IGFBP-1 durch Streß (13, 49, 68) und Blutzuckeränderungen und der deutlichen tageszeitlichen Schwankungen der IGFBP-1-Spiegel (19) eventuell kritisch beurteilt werden.

Im Neugeborenenalter wurden im venösen Blut bislang nur bei den IGF-I und den IGFBP-3 geschlechtsspezifisch unterschiedliche Serumkonzentrationen nachgewiesen, insofern auf diesen möglichen Einflußfaktor überhaupt geachtet wurde (25, 39). Serum-IGF-I und -IGFBP-3 werden auch beim Feten und beim Neugeborenen vorwiegend in der Leber und im Bindegewebe synthetisiert und von dort ins Blut abgegeben (2, 41), ein Prozeß, der postpartal und v. a. beim Erwachsenen wachstumshormonabhängig ist (2, 3), was prä- und perinatal jedoch in der Form nicht nachgewiesen werden konnte. Man weiß, daß v. a. in der Pubertät die Wachstumshormonsekretion aus dem Hypophysenvorderlappen u. a. stark durch Östrogene beeinflusst wird, wobei die Östrogene bei den Knaben erst aus androgenen Vorstufen (v. a. Testosteron) durch Aromatisierung entstehen. Androgene selbst stimulieren die Wachstumshormonausschüttung nicht. In der Pubertät (und selbst präpubertär mit sehr sensiblen Nachweisverfahren) wurden bei Mädchen höhere Östrogenkonzentrationen gemessen, was in diesem Lebensabschnitt als eine mögliche Erklärung für die dann in Folge der östrogeninduzierten, vermehrten hGH-Ausschüttung ebenfalls erhöhten IGF-I- und IGFBP-3-Werte dienen könnte (28). Bei neugeborenen Mädchen allerdings liegen die Östrogenspiegel im venösen Blut ähnlich hoch wie bei männlichen Neugeborenen (91). Zudem ist nicht bekannt, inwieweit in diesem Alter die Produktion der lokalen IGF-I bzw. IGFBP-3 von den Sexualsteroiden

abhängt. Gerade im Feten ist ja, wie oben erwähnt, eine zentrale Regulation der Serum-IGF-I- bzw. IGFBP-3-Spiegel gar nicht sicher erwiesen. Die Serum-IGFs und ihre Bindungsproteine werden vielmehr als Resultanten der lokalen, gewebsständigen Peptidsynthese verstanden (41, 42).

### **5.2.3 Kindliche arterielle IGFBP-2**

Über Verteilung und Funktion der IGFBP-2 wurden im Vergleich zu IGFBP-1 und IGFBP-3 deutlich weniger Untersuchungen durchgeführt. IGFBP-2 wird im fetalen Organismus zusammen mit IGFBP-1 als das Hauptbindungsprotein der IGFs angesehen (5, 12, 21, 31), es kommt dort in der 2-4-fachen Konzentration im Vergleich zu den Konzentrationen im Erwachsenenserum bei gleichzeitig deutlich erniedrigten IGFBP-3-Serumspiegeln vor. Die im Serum zirkulierenden IGFBP-2 stammen auch beim Kind zum größten Teil aus der Leber (12, 31). IGFBP-2 besitzt zu IGF-II im Vergleich zu IGF-I eine deutlich höhere Affinität (3, 20, 31), und es wird vermutet, daß IGF-II einer der Hauptregulationsfaktoren der IGFBP-2 ist (2, 20). So findet man in der frühen Schwangerschaft in vielen fetalen Geweben häufig eine sich sehr stark entsprechende Verteilung von IGFBP-2- und IGF-II-mRNA (21). In der Plazenta wurden in den aus fetalem Gewebe bestehenden invasiven intermediären Trophoblastenzellen, quasi 'gegenüber' von den Gewebsabschnitten mit den höchsten IGFBP-2-mRNA-Konzentrationen (und v. a. auch mit den höchsten IGFBP-1- und IGFBP-1-mRNA-Konzentrationen), nämlich den mütterlichen Deziduazellen, die stärksten IGF-II-Vorkommen gefunden (4).

Übertragen auf meine Arbeit ist also im gleichen Kompartiment (im kindlich arteriellen) nach entsprechenden Unterschieden von IGF-II bei Knaben und Mädchen zu suchen. Dort finden sich jedoch für die IGF-II-Werte keine signifikanten geschlechtsabhängigen Konzentrationsunterschiede, die über eine regulative Wirkung die unterschiedlichen Konzentrationen der IGFBP-2 bei Mädchen und Knaben erklären könnten.

Postpartal fallen die anfänglich bei Geburt sehr hohen IGFBP-2-Werte zuerst sehr zügig und dann bis zur Pubertät hin langsamer ab, um schließlich v. a. im höheren Alter wieder vermehrt anzusteigen (2, 20, 31). IGFBP-2 wurde wiederholt invers korreliert mit den Wachstumshormonspiegeln nachgewiesen, so daß unter diesem Gesichtspunkt ein pubertätsbedingtes Abfallen der IGFBP-2-Serumspiegel durchaus schlüssig wäre, erfolgt doch in dieser Lebensphase ein deutlicher Wachstumssput, der v. a. von der vermehrten Wachstumshormonsekretion in Interaktion mit Androgenen und Östrogenen in seinem Ausmaß wesentlich mitbestimmt wird (28).

Demgegenüber stehen die ausführlichen Untersuchungen von Juul (30) und Blum (20) zum Verlauf der IGFBP-2-Konzentrationen während der verschiedensten kindlichen Altersstufen. Die Pubertät setzt bei Mädchen im Mittel um etwa 1-2 Jahre früher ein, ein Faktum, daß sich in diesen Arbeiten nicht in entsprechenden, zumindest phasenweise nachweisbaren mittleren Konzentrationsunterschieden bei Jungen und Mädchen während der Pubertätszeit niederschlug. IGFBP-2 wurde während des gesamten postpartalen Lebens bei männlichen und weiblichen Probanden in annähernd gleich hoher Konzentration gemessen.

Man hat in einigen Untersuchungen das kindliche Körpergewicht bei Geburt und das Plazentagewicht mit den IGFBP-2-Werten im venösen Nabelschnurblut verglichen und ist dabei zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen. Bei Osario (27) und Fant (45) konnte weder ein signifikanter Zusammenhang zum Geburtsgewicht noch zum Plazentagewicht hergestellt werden. Klauwer (44) hat jedoch in seinen Untersuchungen an 133 Neugeborenen eine hochsignifikante inverse Beziehung zwischen IGFBP-2-Werten und dem kindlichen Körpergewicht gefunden. Diese Ergebnisse würden im Prinzip allerdings einem Überwiegen männlicher IGFBP-2-Werte gegenüber weibliche widersprechen, insofern Knaben im Mittel etwas schwerer geboren werden als Mädchen. Bei den eigenen Probanden ließ sich allerdings bezüglich Plazentagewicht und dem Körpergewicht der Neugeborenen kein geschlechtsspezifischer Unterschied zeigen.

Es bleibt zusammenfassend letztlich unklar, ob die gemessenen geschlechtsspezifischen Unterschiede der mütterlichen IGF-II-Werte und der kindlichen arteriellen IGFBP-2- und IGFBP-3-Werte nur als Zufallsprodukte ohne schlüssige pathophysiologische Erklärung zu werten sind. Letztlich muß man sie aber bei zukünftigen Untersuchungen wohl als ernstzunehmende Hinweise auf einen möglichen derartigen Unterschied betrachten und die Studien nach diesem Einflußfaktor hin ausrichten, um möglichen Fehlinterpretationen vorzubeugen. Dies trifft nach der Übereinstimmung meiner Ergebnisse mit den Ergebnissen aus einigen Untersuchungen bei Kindern und Erwachsenen v. a. für die IGFBP-3-Werte, aber auch für die IGF-I-Werte zu (30, 31, 51, 52, 56, 57, 59). Für ein nach dem Geschlecht differenziertes Vorgehen bei zukünftigen Studien sprechen auch die Korrelationen zwischen dem Plazentagewicht und den mütterlichen IGF-I- und IGFBP-1-Werten, bzw. den kindlichen venösen IGF-II-Werten, wo zwar nie signifikante Zusammenhänge nachgewiesen werden konnten, wo allerdings bei männlichen und weiblichen Neugeborenen tendentiell gegensätzliche Abhängigkeiten gefunden wurden, ohne daß dies genauer erklärt werden könnte (vgl. Tabelle 14).

### 5.3 Das fetale Wachstum

Das fetale Wachstum wird im Wesentlichen von einem ausreichenden Nährstoff- (vor allem Glucose und Aminosäuren) und Sauerstoffangebot von Seiten der Plazenta und des mütterlichen Organismus bestimmt, sieht man von genetischen, chromosomalen oder infektiös-toxischen Einflußfaktoren ab, die zu einer intrauterinen Wachstumsverzögerung führen können. An der Regulation des mütterlichen Nährstoffangebotes an die Plazenta bzw. der Nährstoffaufnahme durch die Plazenta, der Weiterleitung dieser Nährstoffe ins fetale Blut und deren Umsetzung im Rahmen der fetalen Entwicklung und des fetalen Wachstums sind viele Hormone beteiligt, wobei hier den IGFs und ihren Bindungsproteinen und dem Insulin die Hauptrolle zugeschrieben wird (9, 65, 68).

Das postnatal wichtige Wachstumshormon scheint pränatal trotz erhöhter fetaler Serumspiegel für das kindliche Größenwachstum nur eine untergeordnete Rolle einzunehmen. Hauptindiz für diese Aussage ist die bei Kindern mit kongenitalem Wachstumshormonmangel beobachtete nur sehr geringe Reduktion des Wachstums (9, 65).

Über die Rolle des hPL, das von der Plazenta synthetisiert und auch ins fetale Blut abgegeben wird, ist man sich nicht ganz klar. Auf der einen Seite wird von einer stimulierenden Wirkung auf die fetale Aminosäureaufnahme, Glykogensynthese und die fetale IGF-Sekretion gesprochen (37), andererseits erscheinen Kinder mit einer hPL-Gendeletion nicht wachstumsretardiert (9).

Daß die IGFs und ihre Bindungsproteine bei der Regulation des fetalen Wachstums eine Hauptrolle spielen, darüber besteht kein Zweifel. Den eindeutigsten Beweis dafür lieferten Experimente mit genetisch manipulierten Mäusen, denen die Gene für IGF-I , IGF-II bzw. für den Typ-1-IGF-Rezeptor künstlich entfernt wurden. Diese Mäuse waren bei Geburt deutlich wachstumsretardiert und je nach Gendeletion zum Teil gar nicht lebensfähig (3).

Boten-RNA der IGFs findet man in allen fetalen Geweben, wobei immer deutlich höhere IGF-II-mRNA-Mengen im Vergleich zu IGF-I-mRNA gefunden wurden. Im Vergleich zu Erwachsenen findet man beim Feten in extrahepatischem Gewebe wie z.B. im Gehirn, im Magen oder im Pankreas größere IGF-I- und IGF-II-mRNA-Mengen. Die in der Leber nachgewiesenen Mengen sind hingegen deutlich geringer. Diesem Verhältnis der IGF-Synthese in der fetalen und der erwachsenen Leber entspricht das Verhältnis der im jeweiligen Serum nachgewiesenen IGF-I-Spiegel, was zu der

Annahme führte, daß der Hauptbildeort der Serum-IGFs beim Erwachsenen wohl die Leber sein dürfte. Im fetalen Organismus spielen neben der Leber v. a. das Bindegewebe mesenchymalen Ursprungs und die Nieren eine ebenfalls nicht unbedeutende Rolle bei der Synthese der im Blut nachgewiesenen IGF-I (65).

Die im fetalen Serum gemessenen IGF-I-Spiegel zeigten wiederholt eine positive Korrelation mit dem kindlichen Körpergewicht (5, 10, 12, 44, 65). Daraus ergibt sich aber nicht zwingend der Schluß, daß IGFs ihre wesentliche Wirkung endokrin als steuernde Faktoren auf das fetale Wachstum bzw. die fetale Entwicklung ausüben, ähnlich der Wachstumshormon-IGF/IGFBP-Achse beim Erwachsenen. Vielmehr ist es naheliegender, in den IGF-Serumkonzentrationen einen Spiegel der lokalen, in den verschiedenen Körpergeweben in unterschiedlichem Ausmaß stattfindenden IGF-Bildung zu sehen (2, 41, 42).

Im wesentlichen scheint das fetale Wachstum durch auto bzw. parakrin wirkende Wachstumsfaktoren reguliert zu werden. Dafür spricht auch das im Vergleich zu Erwachsenen etwas unterschiedliche hormonelle Zusammenspiel im fetalen Organismus. Die klassische endokrine Regulation der IGF-Spiegel durch das hypophysäre Wachstumshormon wird für diesen Lebensabschnitt entweder vereint (5, 41, 68) oder zumindest in seinem Gewicht doch deutlich niedriger gewertet (9). Für die Schilddrüsenhormone wurde im Tierexperiment eine regulative Wirkung auf die zirkulierenden IGF-Spiegel nachgewiesen (9, 65), Hauptfaktor in der fetalen IGF-Regulation scheinen aber, insbesondere in der 2. Schwangerschaftshälfte, das Nährstoffangebot und hier wiederum die Glukoseverfügbarkeit und die damit zusammenhängenden Insulinspiegel zu sein.

Im System der Bindungsproteine finden im fetalen Serum zumindest im Tierexperiment abhängig vom Nährstoffangebot ebenfalls charakteristische Veränderungen mit einem Abfall der IGFBP-3- und einem Anstieg der IGFBP-1- und IGFBP-2-Konzentrationen bei künstlich erzeugter Mangelversorgung statt (9). Bei wachstumsretardierten menschlichen Neugeborenen sind ähnlich erniedrigte IGFBP-3- bei erhöhten IGFBP-1- und IGFBP-2-Spiegeln nachweisbar (5, 44).

Die Einordnung von IGF-II in Bezug auf seine genaue Rolle bei der Regulation des fetalen Wachstums fällt schwerer. Korrelationen mit dem kindlichen Körpergewicht wurden nicht nachgewiesen (9, 44, 65). IGF-II und IGF-II-mRNA kommt in fetalem Gewebe und Serum durchweg in deutlich größeren Mengen als IGF-I vor. Aus Tierexperimenten mit IGF-II-gendeletierten Ratten ist die Wichtigkeit der IGF-II für das fetale Wachstum (v. a. für das Knochen- und Muskelwachstum) eindeutig belegt (3). Aus den gleichen Experimenten kann man auch zu dem Schluß kommen, daß IGF-II



bei Ratten in der frühen embryonalen Entwicklung wesentlich ist, IGF-I hingegen in der späteren Schwangerschaft IGF-II zunehmend in seiner Wichtigkeit ablöst. Rückschlüsse auf die menschliche Spezies sind allerdings nur mit Vorsicht zu ziehen, da dort offensichtlich ein anderes Zusammenspiel der Wachstumsfaktoren vorherrscht (9).

Möglicherweise ist die Rolle der IGF-II während der fetalen Entwicklung neben seinem wachstumsstimulierenden Effekt über Typ-1-IGF-Rezeptoren auch in der durch den Typ-2-IGF-Rezeptor vermittelten Wirkung zu suchen. Man weiß, daß IGF-II über diesen Rezeptortyp an der Regulation der abbauenden lysosomalen Enzyme beteiligt ist. Die Regulation dieser abbauenden Enzyme dürfte gerade in der Phase des größten körperlichen Wachstums, das, um Aufbau zu ermöglichen, auf einen genau abgestimmten und suffizienten Um- und Abbau bereits vorhandener Körpersubstanz angewiesen ist, eventuell eine nicht unbedeutende Rolle spielen.

#### **5.4 Rolle der Plazenta bei der Regulation des fetalen Wachstums**

Die Plazenta ist anschaulich betrachtet das Organ, das zwischen heranwachsendem kindlichen und versorgendem mütterlichen Organismus liegt und damit eine zentrale Vermittlungsfunktion zwischen beiden wahrnehmen muß. Sie besteht aus einem kindlichen (v. a. Chorionplatte, Zottenstroma, Blutgefäße, Synzytiotrophoblast und Trophoblast) und einem mütterlich Anteil (Dezidua basalis und Plazentasepten) und stellt so eine funktionell-morphologische Einheit zwischen Fetus, Plazenta und Mutter her (63, 64). Die Plazenta entwickelt sich während einer normalen Schwangerschaft in Größe und Funktion (soweit man diese bestimmen kann) im Rahmen der fetalen Entwicklung mit, was in einer durchgehend guten Korrelation zwischen Plazentagewicht und fetalem Körpergewicht bzw. dem Körpergewicht des Neugeborenen bei Geburt seinen meßbaren Ausdruck findet (43, 64, 65).

Der Plazenta werden folgende wichtige Funktionen zugeschrieben:

1. V. a. in der Frühschwangerschaft entwickelt die Plazenta eine eigene Stoffwechselaktivität, um den heranwachsenden Keim ausreichend v. a. mit Glykogen, Cholesterol und Fettsäuren zu versorgen. Diese Funktion verliert im weiteren Schwangerschaftsverlauf zunehmend an Bedeutung (46, 63, 64).
2. Über z. T. aktive, z. T. hochselektive Transportprozesse gewährleistet die Plazenta eine genau auf die Entwicklungsphase des Feten abgestimmte optimale Versorgung desselben mit Nährstoffen (Glukose, Aminosäuren, Fette), Elektrolyten, Vitaminen und Spurenstoffen sowie mit Sauerstoff und Wasser.
3. Die Plazenta dient als Ausscheidungsorgan des Feten für Kohlendioxid, Harnstoff, Harnsäure, Bilirubin und andere, für den Feten schädliche Substanzen.
4. Die Plazenta erzielt über endokrin wirksame Protein- und Steroidhormone regulatorische Wirkungen auf den gesamten Stoffwechsel des mütterlichen Organismus, die für eine normale Schwangerschaft und eine regelrechte Entwicklung des Kindes von großer Bedeutung sind. Im Rahmen dieser Arbeit sind hier Veränderungen, die den mütterlichen Kohlenhydrat-, Aminosäuren- und Fettstoffwechsel betreffen, besonders hervorzuheben.
5. Lokal stellt die Plazenta ein Grenzorgan zwischen kindlichem und mütterlichem Organismus dar, wobei neben immunmodulatorischen endokrinen Wirkungen im mütterlichen Blut auch die Regulation der lokalen Immunfunktion im Sinne einer Verhinderung einer Abstoßung eine wichtige Rolle spielt.

Die wichtigste Funktion in Bezug auf das fetale Wachstum ist eine ausreichende Versorgung des Feten mit Nährstoffen und Sauerstoff. Voraussetzung dafür ist eine ausreichende Versorgung der Plazenta mit mütterlichen Nährstoffen, die durch mütterliche Fehl- oder Mangelernährung, vor allem aber durch mütterliche Gefäßkrankheiten (z. B. schwangerschaftsinduzierter Bluthochdruck, Eklampsie, HELLP-Syndrom, mütterliches Rauchen während der Schwangerschaft) und einen dadurch reduzierten plazentären Blutfluß stark beeinflußt werden und im Gefolge zu einer intrauterinen Wachstumsretardierung des Feten führen kann (9).

Um ihre zentralen Funktionen weitgehend sicherzustellen, übernimmt die Plazenta im mütterlichen Organismus zentrale endokrinologische Funktionen. Neben Sexualsteroiden wie dem schwangerschaftserhaltendem Progesteron und den Östrogenen werden auch ein plazentäres ACTH zur Regulation der Nebennierenfunktion und des Glukokortikoidstoffwechsels, das hCG, um thyreotrope

Funktionen wahrzunehmen, sowie GnRH sezerniert. Letzteres ersetzt im Zusammenspiel mit dem hCG die mütterliche GnRH-LH/FSH-Gonadenachse fast vollständig. Zudem produziert die Plazenta noch vielfältige andere Peptidhormone und Zytokine, die lokal und systemisch zu den komplexen Stoffwechselveränderungen des mütterlichen Organismus in der Schwangerschaft beitragen (46).

Das mütterliche Wachstumshormon, das im Zusammenhang mit dem IGF/IGFBP-System näher zu betrachten ist, wird in seiner Funktion vor allem während der Spätschwangerschaft fast vollständig durch GH-v, weniger auch durch hPL und Prolaktin ersetzt. Alle drei Hormone gehören zu einer großen Hormonfamilie und wirken über ähnliche, z. T. die gleichen Rezeptoren (71). Das führt dazu, daß Frauen mit Wachstumshormonmangel bzw. mit Akromegalie durchaus normal große und normal entwickelte Kinder zur Welt bringen können (68).

**hPL** wird von der Plazenta ins maternale und ins fetale Blut sezerniert. Bei der Mutter kommt es durch hPL zu einer insulinantagonistischen Wirkung. Lipo- und proteolytische Effekte und vor allem eine Zunahme der Glukoseintoleranz bei gesteigerter peripherer Insulinresistenz führen zu einem vermehrten Glukose- und Aminosäureangebot an die Plazenta. Im Feten scheint hPL die Glykogensynthese, die intrazelluläre Aminosäureaufnahme und die DNA- bzw. RNA-Synthese zu stimulieren. Im fetalen Organismus löst hPL also genau entgegengesetzte Effekte aus, die in ihrer Gesamtheit zu einer Verwertung der angebotenen Nährstoffe im Rahmen des kindlichen Wachstums führen. Mütterliches hPL und IGF-I-Werte steigen während der Schwangerschaft parallel an, so daß in Zusammenschau mit Ergebnissen aus Tierversuchen angenommen wird, daß hPL auch an der Regulation der mütterlichen IGFs beteiligt ist. Im Feten wird am Ende der Schwangerschaft ebenfalls eine Korrelation zwischen IGF-I und hPL gefunden. Außerdem gelang es, mit hPL in fetalen Fibro- und Myoblasten die IGF-I-Synthese zu stimulieren, so daß der wachstumsstimulierende direkte Effekt von hPL eventuell zusätzlich durch eine entsprechende Modifikation im IGF-System unterstützt wird (37, 71).

Es wird jedoch inzwischen diskutiert, daß ein mehr oder weniger großer Teil der bisher dem hPL zugesprochenen Wirkungen vom **GH-v** verursacht wird. Beim GH-v handelt es sich um ein dem hypophysären Wachstumshormon ähnliches Protein (Unterscheidung in nur 13 Aminosäuren), das von der fetalen (Synzytiotrophoblast) Plazenta synthetisiert und nur ins mütterliche Blut sezerniert wird und vor allem in der zweiten Schwangerschaftshälfte zunehmend die Funktion des mütterlichen Wachstumshormons übernimmt. Ein direkter Einfluß des GH-v auf das fetale Wachstum ist damit weitgehend ausgeschlossen. GH-v wird nicht pulsatil, sondern

kontinuierlich von der Plazenta sezerniert. Mütterliche IGF-I korrelieren im Schwangerschaftsverlauf gut mit GH-v-Werten und sind, wie auch die GH-v-Spiegel, im mütterlichen Serum bei wachstumsretardierten Neugeborenen erniedrigt (36, 68, 70).

Eine Eigenregulation des Plazentawachstums durch GH-v ist denkbar, da in der Plazenta und dort vor allem im Synzytiotrophoblasten, dem Syntheseort des GH-v, ebenfalls Wachstumshormonrezeptoren exprimiert werden (68).

## **5.5 IGFs und IGFBPs in der Plazenta**

Mit histochemischer 'in situ'-Hybridisierung und gleichzeitigem immunhistochemischen Nachweis gewebsspezifischer Faktoren gelang es, sich anhand ihrer mRNA einen Überblick über die genauen Syntheseorte der IGFs und ihrer Bindungsproteine innerhalb der Plazenta zu verschaffen (4). Vergleichbar dazu ist es mit ähnlichen Methoden auch möglich, die Peptide selbst in den unterschiedlichen plazentären Geweben nachzuweisen (72).

Haupt-IGF in der Plazenta ist das IGF-II, dessen mRNA in allen Schwangerschaftsphasen in deutlich höheren Konzentrationen nachgewiesen werden konnte als mRNA von IGF-I bzw. des Typ-1-IGF-Rezeptors. IGF-II-mRNA findet man in großen Mengen quasi nur in den fetalen Plazentaanteilen und hier wiederum in besonderem Ausmaß in den Zellen des invasiven intermediären Trophoblasten und des Chorions, Zellverbänden, die in besonders engem Kontakt zu den mütterlichen Gewebsanteilen, namentlich der Dezidua basalis und parietalis liegen. IGF-I-mRNA kommt in geringeren Mengen in fast allen Zelltypen (v. a. mesenchymalen Ursprungs) des fetalen Plazentagewebes mit Ausnahme des Synzytiotrophoblasten vor. Weder IGF-I- noch IGF-II-mRNA ließ sich in mütterlichen Deziduazellen nachweisen.

In den Deziduazellen, genau gegenüber von den Bereichen, in denen die größten IGF-II-mRNA-Mengen nachgewiesen wurden, befinden sich der Hauptsyntheseort der IGFBPs mit einem Vorherrschen von IGFBP-1- und in etwas geringeren Mengen auch IGFBP-2-mRNA (zudem noch IGFBP-4- und -5mRNA). mRNA von IGFBP-3 scheint nicht in allen Deziduazellen exprimiert zu werden, es stellt jedoch das einzige Bindungsprotein dar, dessen mRNA in nennenswerten Umfang auch in fetalen Plazentaanteilen, nämlich in den mesodermalen Anteilen der Chorionplatte und der Chorionvilli, gefunden wurde (4, 7, 8).

mRNA-Nachweis führt zum Ursprungsort der Peptidsynthese. Nicht ganz damit in Einklang zu bringen sind Ergebnisse aus Untersuchungen, in denen die Konzentrationen der verschiedenen Peptide selbst in den unterschiedlichen

Gewebsanteilen gemessen wurden. Hauptpeptid ist das IGFBP-2, das man in relativ großer Menge sowohl im fetalen Synzytiotrophoblasten, im Trophoblasten der Villi wie auch im intermediären Trophoblasten, im Mesenchym der Villi, im Chorion und im Amnion und auch in den mütterlichen Deziduazellen vorfand. IGFBP-1 wie auch IGF-I und IGF-II zeigten ein dem IGFBP-2 annähernd gleiches Verteilungsmuster mit der Ausnahme, daß IGFBP-1, ähnlich oben genannter mRNA-Verteilung, in den Deziduazellen das vorherrschende Bindungsprotein zu sein scheint. IGFBP-3 konnte weder in den fetalen noch in den mütterlichen Plazentaabschnitten ausgemacht werden. Verantwortlich dafür wird das Vorhandensein von IGFBP-3-spezifischen Proteasen in der Plazenta gemacht, die zu einer Instabilität des IGF-IGFBP-3-ALS-Komplexes und damit wahrscheinlich entweder zu einer vorzeitigen Zerstörung der IGFBP-3 oder zumindest zu einer IGFBP-3-Labilität führen, die dann während des biochemischen Nachweises einen vorzeitigen Zerfall derselben bewirkt und das Peptid so dem Nachweis entzieht. Frühere Studien konnten IGFBP-3 vergleichbar der IGFBP-3-mRNA (s. o.) im Mesoderm der Plazentavilli nachweisen (72).

Wichtig zur Klärung der Frage, ob die Plazenta auch Zielorgan zirkulierender IGFs ist, ist das Vorhandensein der spezifischen IGF-Rezeptoren in den verschiedenen plazentären Zellverbänden. Mit 'in situ'-Hybridisierungsmethoden konnten auch hier auf jedem Zelltyp fetalen wie mütterlichen Ursprungs Typ-1-IGF-Rezeptoren in etwa gleichen Konzentrationen und ohne ein spezifisches Verteilungsmuster nachgewiesen werden (4). Die stimulierende Wirkung der IGF-I auf den Trophoblasten, die zur Differenzierung zum Synzytiotrophoblast führt, erfolgt über Typ-1-IGF-Rezeptoren (76). Andere Autoren konnten zeigen, daß in der Plazenta neben dem Typ-1-IGF-Rezeptor auch ein großer Anteil an Insulin-Typ-1-IGF-Hybridrezeptoren mit einer bevorzugten Bindung des IGF-I exprimiert wird (77). Untersuchungen an Synzytiotrophoblastenzellen von Plazenten termingeborener Neugeborener ergaben eine asymmetrische Rezeptorverteilung mit einem Überwiegen von Typ-2-IGF-Rezeptoren auf der fetalen basalen Plasmamembran, einem Überwiegen von Insulin-Rezeptor-alpha-Untereinheiten auf der zum intervillösen Raum hin gerichteten mikrovillösen Membran und einer annähernd gleichen Verteilung der Typ-1-IGF-Rezeptor-alpha-Untereinheiten auf der basalen wie der lumenwärtigen Membran (78). Für Typ-2-IGF-Rezeptoren ist eine generelle plazentäre Expression schon seit längerem bekannt (5, 16, 41).

Das Vorkommen von Typ-1- und Typ-2-IGF-Rezeptoren und von Insulin-Typ-1-IGF-Hybridrezeptoren in der gesamten Plazenta spricht für ein Wirken der IGFs auch in der Plazenta. Ob diese damit vorwiegend ein Zielorgan endokrin wirkender zirkulierender IGFs ist oder ob die verschiedenen Rezeptoren v. a. einer, im Rahmen der

Plazentaentwicklung ablaufenden auto- bzw. parakrinen Eigenstimulation benutzt werden, ist damit nicht geklärt.

In der Literatur gibt es sehr wenige Arbeiten, in denen neben der Bestimmung der IGF/IGFBP-Konzentrationen im venösen auch die Konzentrationen im arteriellen Nabelschnurblut untersucht wurden. Namhafte Autoren wie Chard oder Han verneinen bei den IGFBPs nennenswerte arteriovenöse Differenzen, die beim Durchfluß des fetalen Blutes durch die Plazenta entstehen sollten (41, Diskussion). In einer weiteren Arbeit, in der IGF- und IGFBP-Spiegel im Blut von Neugeborenen untersucht wurden, ergab sich für alle Parameter keine Differenz zwischen beiden fetalen Blutkompartimenten (32).

Dem stehen aber eindeutig die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse gegenüber. Kalkuliert man mögliche systematische Fehler, beispielsweise bei der Blutentnahme oder den Konzentrationmessungen mit ein, dann kann man bei den gemessenen IGF-I-, IGFBP-1- und IGFBP-2-Werten bei männlichen und weiblichen Neugeborene wohl von einem weitgehend unbeeinträchtigten Plazentadurchfluß ausgehen. Anders bei den IGFBP-3- und v. a. bei den IGF-II-Werten, sowohl bei den Mädchen als auch bei den Knaben (vgl. Tabelle 15).

Theoretisch sind während des Plazentadurchflusses für die Faktoren des IGF/IGFBP-Systems 5 Möglichkeiten gegeben, die zu einer Konzentrationsänderung im fetalen oder mütterlichen Blut führen können:

1. Kindliche Faktoren treten durch die Plazenta ins mütterliche Blut über.
2. Mütterliche Faktoren treten durch die Plazenta ins kindliche Blut über.
3. Die Faktoren aus dem arteriellen kindlichen oder dem mütterlichen Blut binden an plazentaständige Rezeptoren bzw. werden in der Plazenta verstoffwechselt (z. B. proteolytische Spaltung durch spezifische Proteasen bei den IGFBP-3).
4. Aus der Plazenta werden Faktoren ins venöse kindliche oder ins mütterliche Blut sezerniert.
5. Es findet keine Bindung oder Verstoffwechslung, kein Durchtritt und keine Sekretion der Faktoren in der Plazenta statt.

### **5.5.1 Existenz einer funktionellen bzw. morphologischen Plazentaschranke für die IGFs und ihre Bindungsproteine**

Ein Durchtritt der IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine durch die Plazenta wird bislang in der Literatur verneint, v. a. aufgrund der Tatsache, daß mütterliche und kindliche IGF- bzw IGFBP-Werte nicht jeweils miteinander korreliert werden konnten. Mütterlicher und kindlicher Organismus weisen nach dieser Annahme also eine weitgehend unabhängige Regulation der jeweiligen IGF/IGFBP-Systeme auf, wobei eine indirekte Beeinflussung über Drittfaktoren wie z. B. das Glukoseangebot oder Hormone wie hPL oder GH-v darüber nicht ausgeschlossen ist. Konkrete Versuche an Ratten ergaben bei dieser Spezies keine Hinweise für einen plazentären Übertritt der IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine (5, 41, 68, 74).

Morphologisch gesehen muß kurz vor der Geburt beim Übertritt eines Stoffes vom mütterlichen ins kindliche Blut (und umgekehrt natürlich auch) die Kapillarwand der fetalen Gefäße und der Synzytiotrophoblast zuzüglich der jeweiligen Basalmembranen und z. T. noch dazwischenliegendes Zottenstroma überwunden werden (63). Wie oben erwähnt können im Synzytiotrophoblast IGFBP-2 und in geringeren Mengen auch die IGFs und IGFBP-1 nachgewiesen werden, wobei über mRNA-Bestimmungen der Synzytiotrophoblast nicht gleichzeitig auch Syntheseort der genannten Peptide zu sein scheint (4, 7, 8, 72). Die nachgewiesenen Peptide müssen also entweder aus dem mütterlichen oder kindlichen Blut oder aus benachbartem Gewebe in diese Gewebsabschnitte gekommen sein. Dadurch scheint also prinzipiell ein Übertritt der IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine durch den bzw. vorerst nur in den Synzytiotrophoblast möglich. Bestätigt wird diese Annahme z. T. durch Versuche mit Plazentaperfusionsmodellen, wo gezeigt werden konnte, daß in den mütterlichen Deziduazellen gebildetes IGFBP-1 auch im fetalen Blut nachweisbar war, allerdings nur in sehr kleinen Mengen im Vergleich zu den ins mütterliche Blut sezernierten Mengen (74).

Das von mir verwendete mathematische Modell (Regression der arteriellen und venösen Serumkonzentrationen bzw. der arteriovenösen Differenzen mit den mütterlichen Spiegeln, Tabelle 16 und 17, Abbildungen 5 bis 10) kann Hinweise für einen möglichen Substanzübertritt liefern, kann jedoch nicht zur Differenzierung zwischen direkt übergetretenen Faktoren und einer indirekten Beeinflussung der jeweiligen Faktorkonzentration im anderen Kompartiment über Drittfaktoren beitragen und auch nichts über die Art eines möglichen Übertritts (z. B. passive Diffusion, aktiver Transport oder Pinozytose) aussagen. Außerdem weiß man durch diese

Berechnungen nicht, ob z.B. die Menge der in der Plazenta verstoffwechselten Peptide nicht zufällig etwa der auf der gegenüberliegenden Seite durch die Plazenta abgegebenen Stoffmenge entspricht und so einen Durchtritt durch die Plazenta vortäuscht.

Nach den eigenen Ergebnissen kann bei den Mädchen v. a. bei den IGFs und den IGFBP-3 ein Durchtritt durch die Plazenta in Richtung vom Kind zur Mutter nicht völlig ausgeschlossen werden (Tab. 16). Dem widerspricht die bei den IGFBP-3 deutlich bessere Korrelation der venösen Spiegel mit den maternalen Serumkonzentrationen gegenüber den arteriellen Spiegeln, was sehr viel eher an einen Übertritt maternaler Peptide ins kindliche Blut denken lässt. Bei den männlichen Neugeborenen lassen sich ähnliche Beziehungen nicht herleiten (vgl. Tabelle 16 und 17 und Abbildungen 5 bis 10).

Über aktive Transportvorgänge bezüglich der IGFs oder ihrer Bindungsproteine innerhalb der Plazenta ist nichts bekannt. Passive Diffusion erfolgt hingegen, wenn dies morphologisch überhaupt möglich ist, entlang eines Konzentrationsgradienten. Betrachtet man sich die Serumkonzentrationen der verschiedenen IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine, so findet man einen großen Konzentrationsgradienten vom mütterlichen Blut zum venösen Nabelschnurblut für die IGFs und v. a. für IGFBP-3, umgekehrt einen großen Gradienten vom arteriellen kindlichen Blut zum mütterlichen Blut für IGFBP-2. Die Konzentrationen der IGFBP-1 sind im mütterlichen und in den fetalen Kompartimenten etwa gleich hoch (vgl. Tabelle 11 und 12). In Verbindung gesehen mit den Zusammenhängen, die sich aus den Korrelationsberechnungen zwischen arteriellen und venösen Werten, bzw. aus der arteriovenösen Differenz mit den maternalen Werten ergaben, tragen also möglicherweise die erhöhten mütterlichen Serumwerte von IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 zu einem gewissen Teil über einen solchen Konzentrationsgradienten bei den Mädchen zu den kindlichen venösen Serumspiegeln bei, obwohl nicht sicher ist, inwieweit Peptidhormone passiv oder auch aktiv durch die verschiedenen Schichten der Plazenta diffundieren bzw. transportiert werden können. Warum ein ähnliches Ergebnis bei den männlichen Neugeborenen nicht gefunden werden konnte bleibt unklar. Gerade für die IGF-I und IGFBP-3 scheint es dort im Gegensatz zu den weiblichen Neugeborenen nur sehr wenige Anhaltspunkte für eine direkte Beeinflussung der kindlich-venösen Werte durch die mütterlichen Faktoren zu geben. Zu einem, wenn auch sehr geringen Anteil, lassen sich dafür vielleicht die etwas geringeren Fallzahlen bei den Knaben verantwortlich machen.

Vergleicht man die Ergebnisse aus den Tabellen 15-17 (Korrelationen zwischen arteriellen und venösen Werten, zwischen arteriellen, venösen Werten bzw.



arteriovenöser Differenz und den maternalen Werten) für die weiblichen IGFBP-3-Werte, dann muß man davon ausgehen, daß sich innerhalb der Plazenta zwischen arteriellem und venösen Blut einiges ändert (Tab. 15) und daß ein eventuell nicht unbeträchtlicher Teil der venösen IGFBP-3 aus dem mütterlichen Blut stammt und/oder von der Plazenta ins venöse Blut abgegeben wird. Dafür würden auch die zwar nicht signifikant unterschiedlichen, aber tendentiell doch erhöhten IGFBP-3-Spiegel bei den weiblichen Neugeborenen sprechen, ein Unterschied, der allerdings auch durch die signifikant höheren arteriellen IGFBP-3-Spiegel bei den Mädchen eine Erklärung fände (Tab. 12).

Überraschend sind die Ergebnisse für IGFBP-2, wo es, wenn man den Konzentrationsgradienten betrachtet, eigentlich viel eher zu einem Übertritt kindlicher IGFBP-2 ins mütterliche Blut kommen sollte. Dem widersprechen die tendentiell im Vergleich zu den arteriellen Werten höheren venösen IGFBP-2-Werte sowohl bei den Knaben als auch bei den Mädchen, zudem die negative Steigung der Regressionsgeraden bei den Knaben aus Regressionsberechnungen arteriovenöser Spiegeldifferenzen mit maternalen Werten, die viel eher für einen Übertritt mütterlicher IGFBP-2 ins venöse Blut sprechen würde (Tabelle 16), bzw. einer zusätzlichen IGFBP-2-Sekretion der Plazenta ins venöse fetale Blut.

### **5.5.2 Die Plazenta als Zielorgan kindlicher bzw. mütterlicher IGFs und ihrer Bindungsproteine**

Man weiß, daß die Differenzierung vom Trophoblast zum Synzytiotrophoblast u. a. von den IGF-I über die Typ-1-IGF-Rezeptoren induziert werden kann (76). Bestimmte Enzyme des Steroidsyntheseweges werden ebenfalls durch IGF-I und IGF-II beeinflusst. So stimuliert IGF-I wie IGF-II (und auch Insulin) in Plazentaextrakten die Aktivität der Schlüsselenzyme für die Progesteronsynthese, die 3-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase (3 $\beta$ HSD) und das P450 cholesterol side-chain cleavage-Enzym (P450scc). Alle drei Substanzen können darüberhinaus über eine Hemmung der Aromatase zu einer Verminderung der Östrogensynthese aus androgenen Vorstufen führen. Vermittelt werden diese Wirkungen über Typ-1- und Typ-2-IGF-Rezeptoren (16, 79).

Aus der sehr ähnlichen Verteilung der IGFs und ihrer Rezeptoren innerhalb der Plazenta schließt man, daß die IGFs wesentlich, wahrscheinlich im Sinne einer auto- bzw. parakrinen Eigenstimulation, am Wachstum der Plazenta beteiligt sind (75). Bestätigt wird diese Annahme aus Experimenten mit IGF-I-, IGF-II- bzw. Typ-1-IGF-

Rezeptor-gendeletierten Mäusen, die ein deutlich vermindertes Plazentawachstum aufwiesen (3, 65).

Folgende Hypothese ist zu diskutieren, wenn man sich das kindliche und das mütterliche IGF/IGFBP-System und die zentrale Aufgabe der Plazenta, die Gewährleistung einer adäquaten Versorgung des heranwachsenden Keimes mit Nährstoffen vor Augen führt:

Die Plazenta ist von der Gewebsmasse her v. a. ein kindliches Organ, ist jedoch dem fetalen wie dem mütterlichen Blut ausgesetzt. Theoretisch wäre deshalb das Plazentawachstum durch maternale wie fetale IGFs beeinflussbar. Aus der Anschauung heraus, daß die Plazenta vorwiegend jedoch ein ausgelagertes Organ des kindlichen Organismus darstellt, das im gesunden Zustand ganz im Dienste einer ausreichenden Versorgung des Kindes als Grundlage einer regelrechten körperlichen Entwicklung steht, erscheint es am naheliegendsten, daß entsprechend der kindlichen Entwicklung vorwiegend kindliche IGFs das Plazentawachstum mitregulieren. Wobei die kindlichen IGF-Spiegel selbst wieder als Ausdruck der Gesamternährungssituation des kindlichen Organismus und damit als Spiegelbild einer ausreichenden Plazentafunktion angesehen werden können (9). Mütterliche IGFs, das Nährstoffangebot des mütterlichen Organismus und insgesamt eventuell das mütterliche physische Wohlergehen reflektierend (2), könnten in dieser Funktion als Signale an den kindlichen Organismus und die Plazenta gedeutet werden, die in entsprechender Weise gewisse Plazentafunktionen, v. a. aber die Transportfunktion für Nährstoffe beeinflussen, im Sinne eines Mehr- oder Minderangebots von Glukose oder Aminosäuren an den Feten entsprechend der Ernährungssituation der Mutter.

Es gibt verschiedene Untersuchungen, in denen kindlich-venöse und maternale IGF- und IGFBP-Spiegel mit dem Plazentagewicht korreliert wurden. Dabei schien v. a. fetales IGF-I, z. T. auch IGF-II und IGFBP-3 in positivem Zusammenhang mit dem Plazentagewicht zu stehen. Für IGFBP-1 und IGFBP-2 ließen sich hingegen nie ähnliche Korrelationen aufstellen. Mütterliche IGFBP-1 scheinen in einem negativen Zusammenhang mit dem Plazentagewicht zu stehen, die restlichen Faktoren des IGF/IGFBP-Systems wurden in diesem Zusammenhang im maternalen Serum nie untersucht (27, 45, 80, 81).

Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen ähneln diesen Literaturangaben bei den IGF-I- und IGFBP-3-Werten, jedoch nur bei den weiblichen Probanden. Einen Begründung dieses geschlechtsspezifischen Unterschiedes steht aus. Wichtig erscheint aber die Tatsache, daß gerade arterielles IGF-I eine deutlich positive Korrelation zum Plazentagewicht aufweist, sowohl bei den Mädchen als auch bei

Mädchen und Knaben zusammen (vgl. Tabelle 14). Entsprechend der obigen Hypothese könnten diese Ergebnisse durchaus als ein wesentlicher Baustein in der komplexen Interaktion zwischen kindlicher Entwicklung und der Reifung der Plazenta betrachtet werden. Zum einen erscheint naheliegend, daß das Plazentawachstum direkt durch fetale IGFs beeinflusst wird, entsprechend den fetalen Bedürfnissen, um sich eine ausreichende Versorgung zu sichern. Andererseits weiß man aus Versuchen an Schafen, Ratten und Plazentaexplantaten, daß fetale und maternale IGFs den plazentären Stoffwechsel und die plazentäre Transportfunktion für Glukose und Aminosäuren in der Art beeinflussen, daß erhöhte IGF-Konzentrationen ein erhöhtes Substratangebot an den Feten bewirken. Fetal infundiertes IGF-I reduziert den Aminosäurenstoffwechsel und die Laktatproduktion in der Plazenta und erhöht so eventuell das Nährstoffangebot an den Feten. Infundiert man jedoch mütterlichen Schafen IGF-I, kommt es bei erhöhten mütterlichen Glukosespiegeln zu einer vermehrten plazentären Substrataufnahme und einer erhöhten Laktatproduktion mit einem im Gefolge erhöhten Laktatangebot an den Feten (82, 83). In Ratten bewirkt IGF-I eine Zunahme des Plazentawachstums und der plazentären Glukosetransporter (6). In Trophoblastzellkulturen stimuliert IGF-I (weniger IGF-II) die Glukose- und Aminosäureaufnahme über Typ-1-IGF-Rezeptor in physiologischen Konzentrationen (36, 84, 85). Das heißt zusammengefaßt, will man Aussagen über den Plazentastoffwechsel und die plazentäre Nährstoffversorgung des Feten in Bezug auf die IGFs und ihr Bindungsproteine treffen, so müssen immer fetales und mütterliches IGF/IGFBP-System und deren komplexe Interaktionen gemeinsam betrachtet werden (6, 9).

Alle diese Untersuchungen sprechen für eine sehr enge Verzahnung von Nährstoffangebot als der wichtigsten Voraussetzung einer adäquaten kindlichen Entwicklung in der Spätschwangerschaft einerseits und der hormonellen Regulation dieses Nährstoffangebots und der Nährstoffverteilung und -verstoffwechselung im Rahmen des fetalen Wachstums durch Faktoren des IGF/IGFBP-Systems andererseits. Außer Acht gelassen wurde hier bewußt die Rolle des Insulins und plazentärer Hormone wie dem hPL und dem GH-v, die ebenfalls wesentlich an der fetalen Substratverwertung und -verstoffwechselung beteiligt sind.

Über das Schicksal kindlicher und auch mütterlicher IGFBPs beim Durchfluß durch die Plazenta weiß man wenig. In meinen Untersuchungen finden sich keine Zusammenhänge zwischen kindlich arteriellen IGFBP-1 und -2-Konzentrationen und dem Plazentagewicht. IGFBP-1 und IGFBP-2 sind diejenigen Bindungsproteine, die das Gefäßbett verlassen können, um die IGF-Wirkung im Zielgewebe zu modulieren (2, 3, 67). Möglicherweise stellen die im Synzytiotrophoblasten und im Trophoblasten

vorgefundenen IGFBP-1 und IGFBP-2 solche aus dem fetalen und/oder mütterlichen Blut stammenden Bindungsproteine dar, da sie nicht selbst dort auch synthetisiert werden (4, 72). IGFBP-3 wurde in ähnlicher Verteilung im Synzytiotrophoblasten und im Trophoblasten nicht vorgefunden. Zum einen vielleicht aufgrund der Ausbildung des sehr großen Ternärkomplexes mit den IGFs und der ALS, die einen Endotheldurchtritt verhindert, zum anderen könnten hierfür auch die während der Schwangerschaft auftretenden und zum größten Teil aus den mütterlichen Deziduazellen stammenden IGFBP-3-Proteasen verantwortlich sein, die eventuell zu einem raschen Abbau, zumindest aber zu einer Instabilität der IGFBP-3 führen (5, 65). Man kann spekulieren, daß daraus eine erhöhte IGF-Aktivität durch vermehrt vorhandenes freies IGF resultieren könnte, was wiederum zu einer erhöhten plazentären Transportfunktion für Nährstoffe und vielleicht auch zu einer Stimulation des Plazentawachstums führen könnte, um so das heranwachsende Kind auf jeden Fall ausreichend zu versorgen.

Eine weitere sehr wichtige Funktion der Bindungsproteine innerhalb der Plazenta könnte die Kontrolle der plazentären IGF-Wirkungen sein. Die größten Mengen an IGF-II kommen in der reifen Plazenta in den Zellen des intermediären Trophoblasten vor, der unmittelbar an die mütterlichen Deziduazellen angrenzt und von dem eindeutig die größten invasiven Tendenzen in Richtung zum mütterlichen Gewebe hin ausgehen. Man glaubt, daß diese Invasionstendenzen eng mit der Wirkung der IGF-II zusammenhängen. Dafür spricht auch das Vorkommen der größten IGFBP-Mengen in den Deziduazellen (v. a. von IGFBP-1 und IGFBP-2), die genau gegenüber von den Bereichen aufgefunden wurden, in denen die höchsten IGF-II-mRNA-Konzentrationen gemessen wurden. Sie sollen der lokalen IGF-Regulation dienen und werden in enger Anbindung an die IGF-Konzentrationen synthetisiert (4).

### **5.5.3 In welcher Weise beeinflusst die Plazenta die mütterlichen oder kindlichen IGF- und IGFBP-Spiegel und kann dadurch indirekt oder auch direkt Einfluß auf das fetale Wachstum nehmen?**

#### **5.5.3.1 Mütterliches IGF/IGFBP-System und Plazenta**

Mütterliche Serumspiegel für IGF-I steigen im Verlauf der Schwangerschaft auf das etwa 2-3 fache an (5). Zeitgleich dazu nimmt, wahrscheinlich aufgrund veränderter Bindungsproteinkonzentrationen (IGFBP-1-Anstieg, vermehrte proteolytische Spaltung des IGFBP-3-ALS-Komplexes durch spezifische Proteasen) auch der prozentuale Anteil an freiem IGF-I zu, so daß man insgesamt in der Spätschwangerschaft von einer deutlich erhöhten IGF-I-Aktivität ausgeht (73). Indirekt scheint ein großer Teil des IGF-I-Anstiegs auf der Wirkung des plazentaspezifischen GH-v zu beruhen, das im Schwangerschaftsverlauf zunehmend die Rolle des hypophysären Wachstumshormons übernimmt, parallel zum Plazentagewicht in seinen Konzentrationen ansteigt (36, 68, 70) und eine vermehrte IGF-I-Synthese in der mütterlichen Leber stimuliert (5). Zu einem geringeren Anteil ist wahrscheinlich auch das hPL für den maternalen IGF-I-Anstieg verantwortlich, denn man hat in der zweiten Schwangerschaftshälfte einen zu den IGF-I-Werten parallelen Anstieg der mütterlichen hPL-Konzentrationen beobachtet und weiß aus Zellversuchen, daß hPL die IGF-I-Synthese stimulieren kann (37, 38). Aus diesen Zusammenhängen heraus wäre eine positive Korrelation zwischen Plazentagewicht und mütterlichen IGF-I-Werten indirekt zu erwarten gewesen, konnte jedoch in meinen Untersuchungen nicht nachgewiesen werden (Tab. 14). Ein direkter Beitrag von aus der Plazenta sezernierten IGF-I ins mütterliche Blut wurde nachgewiesen, scheint aber vom Ausmaß her unwesentlich zu sein (74, 86). Dafür sprechen auch die direkt im Plazentagewebe nur mäßig nachgewiesenen IGF-I-mRNA- und Peptidmengen (4, 72), deren Sinn wohl eher in einer auto- bzw. parakrinen Stimulation des Plazentawachstums selbst zu suchen ist.

Anders scheint es bei den mütterlichen IGFBP-1 auszusehen. Dort wäre eine positive Korrelation zum Plazentagewicht noch viel eher zu erwarten gewesen, gilt doch als relativ sicher, daß die Deziduazellen der Plazenta eine der Hauptquellen der mütterlichen IGFBP-1 darstellen (5). Unverständlich erscheinen deshalb Ergebnisse, die sogar von einer negativen Korrelation sprechen (81). Allerdings macht die Dezidua basalis innerhalb der Plazenta einen im Verhältnis zur Chorionplatte nur geringen Gewichtsanteil aus, zudem trägt zu den maternalen IGFBP-1-Spiegeln auch die Dezidua parietalis bei, die in meinen Untersuchungen nicht berücksichtigt wurde. Als

zweite Hauptquelle mütterlicher IGFBP-1 gilt die Leber, die östrogen- und progesteronabhängig in der Schwangerschaft ebenfalls vermehrt IGFBP-1 synthetisiert (73). Ein anderer Grund für den fehlenden Zusammenhang mütterlicher IGFBP-1-Spiegel mit dem Plazentagewicht könnten auch die relativ kurzfristigen IGFBP-1-Schwankungen sein, die abhängig vom Geburtsstreß (deutlich erhöhte Werte bei sekundärer Sektio oder deutlich protrahierten Geburtsverläufen) beobachtet wurden (13, 49, 61) oder durch tageszeitliche Schwankungen bedingt wurden (19).

Wenig weiß man über eine plazentäre Sekretion von IGF-II, IGFBP-2 und IGFBP-3 ins mütterliche Blut. IGFBP-3 steigt während der Schwangerschaft v. a. im dritten Trimenon an und kommt dann allerdings hauptsächlich als 30 kDa-Fragment vor, das nach Spaltung der IGFBP-3 durch eine in der Schwangerschaft vorkommende IGFBP-3-spezifische, aus den Deziduazellen stammende Protease entsteht. Dieses Fragment vermag die IGFs immer noch zu binden, aber mit verminderter Affinität (2, 23). IGF-II im mütterlichen Serum steigt während der Schwangerschaft ebenfalls an, eventuell bedingt durch den IGFBP-3-Anstieg, mit dem die IGF-II-Werte immer eng korreliert sind (2, 62). IGFBP-2 fällt hingegen im Schwangerschaftsverlauf ab, um sich nach der Geburt schnell wieder zu normalisieren (2). Zusammenhänge der genannten Parameter im mütterlichen Blut mit dem Plazentagewicht wurden bislang nicht veröffentlicht.

Aus Perfusionsmodellen an Plazenten von Menschen und Schafen und aus Plazentaexplantaten weiß man, daß eine Abgabe von IGFBP-3 ins maternale Kompartiment vorhanden ist und daß das Endometrium IGFBP-2 und IGFBP-3 sezernieren kann (41, 69). Betrachtet man sich auch hier die im Plazentagewebe nachgewiesenen spezifischen mRNA- und Peptidmengen (4, 72), dann erscheint eine Abgabe von IGFBP-2 in den intervillösen Raum und damit ins mütterliche Blut am ehesten möglich. Die eigenen Untersuchungen scheinen v. a. bei den weiblichen Neugeborenen, aber auch bei Mädchen und Knaben zusammen diese Annahme zu unterstützen. IGF-II wird zwar im fetalen Anteil der Plazenta ebenfalls in sehr großen Mengen vorgefunden, jedoch eher in dem nicht direkt dem intervillösen Raum zugewandten intermediären Trophoblasten in den Haftzotten und im Chorionmesoderm, so daß eine Sekretion ins maternale Blut wahrscheinlich nicht erfolgt. IGFBP-3-mRNA kommt im Bindegewebe der Chorionvilli und in den mütterlichen Deziduazellen vor. Ein wesentlicher Beitrag zu den mütterlichen Serumkonzentrationen erscheint aber angesichts der Höhe dieser Konzentrationen im Vergleich zu den nachgewiesenen IGFBP-3-mRNA-Mengen im Plazentagewebe sehr unwahrscheinlich.

Maternale IGF-II- und IGFBP-3-Werte korrelierten weder bei Mädchen noch bei den Knaben noch bei beiden zusammengekommen mit dem Plazentagewicht.

Die genannten Veränderungen des IGF/IGFBP-Systems im mütterlichen Blut, die, wie angedeutet, weniger direkt durch eine Sekretion der beteiligten Faktoren aus der Plazenta als viel mehr indirekt durch v. a. das plazentäre GH-v, das Progesteron und das hPL unter weitgehender funktioneller Ausschaltung des mütterlichen hypophysären Wachstumshormons erfolgen, tragen einen nicht unwesentlichen Teil zu den für eine normale kindliche Entwicklung in utero so wichtigen Veränderungen im maternalen Stoffwechsel bei, wie sie in der Spätschwangerschaft beobachtet werden. Die Mobilisation von subkutanem Fett und von Proteinen aus der Muskelmasse, beides vermehrt in der frühen Schwangerschaft angelegt, ermöglichen eine ausreichende Versorgung der Plazenta und des heranwachsenden Feten in der Phase des größten kindlichen Wachstumsschubes mit Energie und Eiweisstoffen. In ähnlicher Weise findet eine Veränderung im Kohlenhydratstoffwechsel statt, wo es über eine erhöhte periphere Insulinresistenz und erhöhte mütterliche Blutzuckerspiegel zu einem vermehrten Gukoseangebot an Plazenta und Kind kommt (65).

#### **5.5.3.2 Kindliches IGF/IGFBP-System und Plazenta**

Auf der kindlichen Seite scheint eine auf endokrine Weise wirkende Regulation des fetalen Wachstums unwahrscheinlich (5, 41, 68), obwohl manche Autoren dem plazentären hPL oder auch dem IGF-I eine derartige Rolle zusprechen (9, 37). Diese letzteren Aussagen stützen sich aber v. a. auf wiederholt nachgewiesene positive Korrelationen zwischen kindlichem Körpergewicht und gemessenen IGF-I-Spiegeln im venösen Nabelschnurblut.

Das fetale Gewebe wie auch die Plazenta haben eine im Vergleich mit Gewebsanteilen von Erwachsenen oder auch Kindern eine sehr große Wachstumspotenz. Wachstumsregulation läuft dort im wesentlichen über auto- bzw. parakrine Eigenstimulation der Gewebe durch die IGFs und andere Wachstumsfaktoren mit dem Nährstoffangebot als dem entscheidenden Einflußfaktor ab. Die IGFs im Zusammenspiel mit ihren Bindungsproteinen können im fetalen Blut als Abbild des fetalen 'Wohlfühlens', einer ausreichenden Ernährungssituation, angesehen werden. Sie stellen im Blut einen Ausdruck v. a. der lokalen Peptidsynthese dar, die vorwiegend im Bindegewebe, in der Leber und in den Nieren stattfindet (65). Im Blut beeinflussen sie wiederum entferntere Gewebe, unter anderem eventuell auch die Plazenta (vgl.

obige Ausführungen), aber es gibt in dem Sinne kein Hauptsynthese- und Ausschüttungsorgan der IGFs und ihrer Bindungsproteine, wie es etwa die Hypophyse postnatal für das Wachstumshormon darstellt.

Inwieweit trägt nun die Plazenta doch zu diesen im fetalen Blut zirkulierenden IGFs und IGFBPs bei und welchen Platz nimmt sie in dieser Beziehung im fetalen Organismus ein?

Ausgangspunkt der Betrachtungen muß die lokale Synthese der Proteine sein, insbesondere in den Bereichen der Plazenta, die in engem Kontakt zum fetalen Blut stehen. Das sind der Synzytiotrophoblast und der Trophoblast und das Chorionmesenchym. Die Zellen des intermediären Trophoblasten in den Haftzotten liegen relativ weit von den kindlichen Gefäßen entfernt und Proteine der mütterlichen Deziduazellen können das kindliche Blut nur über die Haftzotten oder über das mütterliche Blut im intervillösen Raum erreichen.

In den kindlichen Plazentaanteilen werden die größten Mengen an IGF-II-mRNA gebildet mit Schwerpunkt im Chorionmesenchym und im invasiven intermediären Trophoblasten. In den fetalen Plazentaabschnitten wird darüberhinaus in deutlich geringerem Ausmaß IGF-I-mRNA und von den Bindungsproteinen eigentlich nur IGFBP-3-mRNA synthetisiert. IGFBP-2- und v. a. IGFBP-1-mRNA konnte nur in den Deziduazellen mütterlichen Ursprungs nachgewiesen werden. Ob aus der jeweiligen mRNA schließlich auch in entsprechender Menge Protein gebildet wird, geht aus den Untersuchungen nicht hervor (4, 7, 8, 87). Der Nachweis der Peptide selbst zeigte nämlich ein anderes Verteilungsmuster, wobei hier wiederum nicht klar ist, ob die entsprechenden Peptide jeweils an ihrem Nachweisort auch gebildet wurden, bzw. ob sie aus dem fetalen oder mütterlichen Blut oder aus benachbartem Gewebe dorthin transportiert wurden oder diffundiert sind (72).

Hauptbindungsprotein in den untersuchten fetalen Plazentageweben ist das IGFBP-2 mit dem Nachweis größter Peptidmengen im Synzytiotrophoblasten, dem Trophoblasten und in geringeren Mengen auch im Plazentastroma und in den fetalen Kapillaren. Ein ähnliches Verteilungsmuster, aber in schwächerer Ausprägung zeigte sich bei den IGFs und dem IGFBP-1. IGFBP-1 ist aber in den Deziduazellen das am stärksten vertretene Bindungsprotein. IGFBP-3 konnte im gesamten Plazentagewebe mit den gleichen Nachweismethoden nicht aufgefunden werden, was am Vorhandensein der schon öfter erwähnten spezifischen Proteasen gelegen haben kann, die zu einer erhöhten Labilität der IGFBP-3 beitragen und diese dadurch eventuell dem Nachweis entziehen (72).



Die Abgabe größerer Mengen von IGF-I ins fetale Blut (wie auch ins mütterliche Blut) scheint insgesamt eher von untergeordneter Bedeutung zu sein. Eine positive Korrelation zwischen venösen IGF-I-Werten und dem Plazentagewicht, wie sie in der Literatur mehrfach beschrieben wurden (27, 45, 80), ließen sich in den eigenen Untersuchungen nicht zeigen. Regressionsberechnungen zwischen arteriellen und venösen kindlichen Werten ließen nicht auf eine wesentliche Veränderung der Konzentration von IGF-I während des Plazentadurchflusses schließen (vgl. Tabelle 15 und Abbildungen 1 und 2). Die genannten Zusammenhänge zwischen kindlichen IGF-I und dem Plazentagewicht lassen sich am plausibelsten durch die mit der Plazentamasse eng verknüpfte Transportkapazität für Nährstoffe, insbesondere für Glukose erklären. Ein erhöhtes Glukoseangebot führt im kindlichen Organismus über eine vermehrte Insulinsekretion schließlich sekundär zu erhöhten IGF-I-Spiegeln (9). Im gleichen Artikel spricht der Autor jedoch von einer phasenweisen IGF-I-Sekretion ins fetale Blut, ausgelöst durch niedrige kindliche IGF-I-Spiegel. Bei Versuchen mit Schafplazenten konnte eine IGF-I-Abgabe aus den Chorionvilli ins fetale Blut gezeigt werden, allerdings nur in sehr geringen Mengen (69). Perfusionsversuche an der menschlichen Plazenta mit und ohne Glukose ergaben im fetalen Blut ebenfalls nur sehr spärlich abgegebene Mengen an IGF-I (74, 86). In der ersten Schwangerschaftshälfte könnte die Plazenta jedoch durchaus einen bedeutsamen Beitrag zu den fetal zirkulierenden IGF-I beisteuern. In fetalem Gewebe der 16.-20. Schwangerschaftswoche wurde nämlich im Magen und in der Plazenta vergleichsweise viel IGF-I-mRNA vorgefunden, in der fetalen Leber und Muskulatur hingegen sehr wenig (15).

Anders als bei den IGF-I wird in der Plazenta deutlich mehr IGF-II-mRNA und IGF-II synthetisiert. Letztere könnten also durchaus in nennenswertem Umfang zu den fetalen IGF-II-Konzentrationen beitragen. Korrelationsberechnungen zwischen venösen IGF-II-Spiegeln und dem Plazentagewicht ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Zum einen wurde ein Zusammenhang zwischen IGF-II und dem Plazentagewicht festgestellt (87), in anderen Untersuchungen konnte dies nicht bestätigt werden (14, 27). Bei den eigenen Untersuchungen zeigt sich ein interessantes, vorerst nicht zu erklärendes tendentiell gegensätzliches Ergebnis bei weiblichen und männlichen Neugeborene (Tabelle 14). Nach Berechnungen aus Tabelle 15 (Regression zwischen arteriellen und venösen Serumspiegeln) lassen sich die venösen Blutspiegel von IGF-II bei Mädchen wie bei Knaben nur zu etwa 20-25 % aus den arteriellen Werten erklären. Der restliche Anteil muß wohl, bei annähernd gleich hohen arteriellen und venösen Serumspiegeln, in sehr unterschiedlicher Weise von der Plazenta moduliert werden, z. T. wahrscheinlich in einer Art Clearance-Funktion, z. T. eventuell durch Sekretion von

IGF-II aus der Plazenta. Man weiß, daß in der Plazenta reichlich Typ-1- und Typ-2-IGF-Rezeptoren vorhanden sind, die zu der genannten Verstoffwechslung der IGF-II beitragen könnten. Auf der anderen Seite gibt es Versuche an Plazentaextrakten, die zeigten, daß IGF-II im Vergleich zu IGF-I in 10-1000-facher Menge abgegeben wird (16). Ob dies v. a. der auto- bzw. parakrinen Eigenstimulation dient oder in vivo wirklich auch ins fetale bzw. mütterliche Blut sezerniert wird, muß dahingestellt bleiben. Experimente an Schafen und an Ratten, bei denen man die Auswirkung einer deutlichen Plazentarestriktion durch Entfernung eines Großteils der Kotyledonen bzw. durch eine einseitige Ligatur der Arteria uterina auf die fetale IGF-mRNA-Synthese in den verschiedenen Geweben und auf die Serum-IGF-Spiegel untersuchte, zeigten, daß eine solche Restriktion tatsächlich zu einer deutlichen Reduktion der lokalen IGF-I-mRNA-Synthese, v. a. in der kindlichen Muskulatur, der Lunge und der Nieren führt. Die IGF-II-mRNA-Synthese wurde in den Schafversuchen nicht beeinflusst, bei den Rattenversuchen war sie ebenfalls vermindert. Die Serumspiegel der IGF-I und IGF-II fielen bei den Schafen deutlich ab (88, 89, 90). Die Frage ist auch hier wieder der pathophysiologische Zusammenhang. Eher unwahrscheinlich scheint eine direkte Beeinflussung der Serumspiegel durch die Plazentarestriktion zu sein, obwohl dies bei den Schafexperimenten auch nicht ganz ausgeschlossen ist. Wahrscheinlicher ist eine Erklärung über das durch die verminderte Plazentagröße deutlich eingeschränkte Nährstoffangebot an den Feten, das schließlich sekundär zu einer verminderten IGF-II- und IGF-II-mRNA- und Peptidsynthese führt, wieder als Ausdruck der eingeschränkten Gesamternährungssituation. Ein weiterer Grund, der gegen eine Sekretion von IGF-II durch die Plazenta spricht, ist die Tatsache, daß wiederholt bei wachstumsretardierten Neugeborenen im Vergleich zu normalgewichtigen Neugeborenen annähernd gleich hohe IGF-II-Spiegel gemessen wurden (9, 42). Bei solchen minderwüchsigen Neugeborenen ohne eindeutige andere Ursache ist meist eine eingeschränkte Plazentafunktion die eigentliche Ursache der Retardierung (6, 9).

Über eine mögliche Sekretion von Bindungsproteinen ins fetale Blut weiß man sehr wenig. Im Mesenchym der Chorionzotten wird hauptsächlich IGFBP-3-mRNA gebildet, aber quasi keine IGFBP-1- oder IGFBP-2-mRNA. Der Ort der maximalen IGFBP-Synthese ist auf jeden Fall die mütterliche Dezidua (4).

Keiner der venösen BP-Blutspiegel korrelierte mit dem Plazentagewicht (Tabelle 14). Dies entspricht weitgehend den Ergebnissen aus der Literatur, wo ebenfalls keine signifikante Korrelation zwischen IGFBP-1, IGFBP-2 und dem Plazentagewicht nachgewiesen werden konnten. Für IGFBP-3 gibt es dort unterschiedliche Resultate. Zum einen wurden signifikante Korrelationen gezeigt, die in anderen Studien jedoch nicht bestätigt werden konnten (27, 45, 87).

Regressionsberechnungen zwischen arteriellen und venösen Serumkonzentrationen lassen nur bei IGFBP-3 den Schluß einer wesentlichen Veränderung der Serumspiegel beim Durchfluß durch die Plazenta zu (vgl. Tabelle 15, Abbildungen 3 und 4). Fetale IGFBP-3 verlassen die Plazenta jedoch auf der venösen Seite in nahezu unveränderter Konzentration. Das gleiche läßt sich für IGFBP-1 sagen. Venöse fetale IGFBP-2-Spiegel sind allerdings tendenziell höher als arterielle (Tabelle 12). IGFBP-1 und IGFBP-2 scheinen beim Plazentadurchfluß auf Grund hoher Korrelationen arterieller und venöser Werte keinen wesentlichen Stoffwechselvorgängen zu unterliegen (Tabelle 15).

Ob in der Plazenta eine IGFBP-3-Sekretion ins kindliche Blut erfolgt ist sehr zweifelhaft. IGFBP-3 wird in der Plazenta nur in geringem Ausmaß synthetisiert (4), allerdings von mit Glukose perfundierten Schafplazenten auch ins fetale Blut abgegeben (69). Vermutlich hängen die scheinbar in der Plazenta stattfindenden wesentlichen Veränderungen der IGFBP-3-Konzentrationen zu einem gewissen Teil aber mit dem oben bereits erwähnten Konzentrationsgradienten vom mütterlichen zum fetalen Blut hin zusammen, was eventuell zu einem Übertritt mütterlicher IGFBP-3 führt. Mit größerer Wahrscheinlichkeit beeinflussen aber auch mütterliche bzw. plazentaständige Proteasen die IGFBP-3-Spiegel während des Plazentadurchflusses, obwohl diese Proteasen im kindlichen Blut kaum nachgewiesen werden konnten (2, 3). Gegen eine Sekretion von IGFBP-1 oder IGFBP-2 sprechen die niedrigen IGFBP-1- bzw. IGFBP-2-Syntheseraten in den fetalen Plazentaanteilen (4). Die v. a. im Synzytiotrophoblasten angetroffenen großen IGFBP-2- und auch IGFBP-1-Mengen stammen nicht notwendigerweise aus plazentaeigenem Gewebe, sondern vielmehr wahrscheinlich aus dem fetalen Blut oder aus mütterlichen Deziduazellen. Dort stellen IGFBP-1 und IGFBP-2 jeweils die Hauptbindungsproteine dar. Für venöse IGFBP-2 besteht ein Konzentrationsgefälle vom kindlichen zum mütterlichen Blut. Nicht ganz sicher ist aber die Herkunft der höheren venösen IGFBP-2-Werte. Sie ließen sich vorerst nur erklären, wenn IGFBP-2 aus mütterlichen Deziduazellen ins fetale Blut gelangen würden.

IGFBP-1 im Synzytiotrophoblasten und im Trophoblasten könnte, da hier kein Konzentrationsgradient besteht, aus dem kindlichen Blut oder aber aus dem mütterlichen Blut im intervillösen Raum stammen. Von beiden Bindungsproteinen weiß man, daß sie, im Gegensatz zum IGFBP-3 bzw. dem IGF-IGFBP-3-ALS-Ternärkomplex, das Gefäßbett verlassen können, um im Zielgewebe die Wirkung der IGFs zu modulieren bzw. um eigene Wirkungen auszuüben (2, 3).

Eventuell helfen auch hier Perfusionsmodelle weiter. Perfundiert man menschliche Plazenten termingeborener Neugeborener mit einer Glukoselösung, kommt es zu einem signifikanten Anstieg der IGFBP-1-Sekretion v. a. ins mütterliche Blut. Ins kindliche Blut treten dabei nur sehr geringe Mengen über. Diese Versuchsanordnung soll in diesem Zusammenhang aber nur zur Demonstration einer weitgehenden morphologischen oder auch nur funktionellen Plazentaschranke zwischen den IGFBP-1-synthetisierenden mütterlichen Deziduazellen und dem kindlichen Blut dienen. In vivo wird nämlich die IGFBP-1-Sekretion, ausgelöst durch erhöhte maternale Blutzuckerspiegel, durch ebenfalls ausgeschüttetes Insulin viel mehr inhibiert als stimuliert (74).

Perfusionsmodelle bzw. Experimente mit Plazentaexplantaten im Zusammenhang mit einer plazentären IGFBP-2-Sekretion existieren meines Wissens nicht.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Die in dieser Arbeit gemessenen Serumkonzentrationen von IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 liegen im Vergleich in etwa gleicher Höhe wie die schon in früheren Untersuchungen (mit zum Teil unterschiedlichen Methoden gemessenen) Konzentrationen (vgl. Tabelle 18 und 19).

Bisher wurde eine Differenzierung der Spiegelhöhen der genannten Faktoren in den untersuchten Serumproben nach dem Geschlecht ihrer Spender nur sehr selten vorgenommen, obwohl nach Ergebnissen dieser Arbeit das Geschlecht durchaus als ein wesentlicher Einflußfaktor zu werten ist. V. a. bei den IGF-I- und den IGFBP-3-Spiegeln im kindlichen Serum scheint ein nach Geschlechtern getrenntes Vorgehen in Zukunft auf jeden Fall angeraten zu sein, denn für diese Faktoren wurde nicht nur im Neugeborenenalter, sondern auch im Kleinkindes-, Pubertäts- und Erwachsenenalter wiederholt ein Überwiegen der weiblichen Serumspiegel nachgewiesen (25, 30, 31, 39, 51, 52, 57, 59). Es scheint in Zukunft auch deshalb sinnvoll zu sein, die Interaktionen der IGFs bzw. ihrer Bindungsproteine nach Geschlechtern getrennt zu untersuchen, da zusätzlich zu den genannten unterschiedlichen Serumkonzentrationen einzelner Parameter bei den eigenen Meßreihen wiederholt gegensätzliche Tendenzen in den Korrelationen dieser Konzentrationen mit z. B. dem kindlichen Körpergewicht zu beobachten sind. Durch eine Vernachlässigung dieses Einflußfaktors gehen eventuell wertvolle oder sogar wesentliche Informationen verloren, was zu Fehlinterpretationen der Ergebnisse führen kann.

Im Rahmen des fetalen Wachstums kommt den IGFs und ihren Bindungsproteinen eine nicht unerhebliche Rolle zu. Sie gehören zu den wichtigsten Wachstumsfaktoren, die Zellproliferation und -differenzierung fördern und zudem ganz wesentlich bei der Verteilung und Verstoffwechselung von Glukose und Aminosäuren zwischen kindlichem und mütterlichem Organismus beteiligt sind (9, 47).

In der Plazenta wird in großen Mengen IGF-II synthetisiert, aber nur in den fetalen Anteilen. IGF-I wird ubiquitär produziert, ähnlich den Typ-1- und Typ-2-IGF-Rezeptoren. Bindungsproteine werden mit Ausnahme der IGFBP-3 nur in den mütterlichen Anteilen gebildet mit Schwerpunkt in den Deziduazellen (4).

Bislang geht man von einer funktionellen bzw. morphologischen Plazentaschranke für die IGFs bzw. ihre Bindungsproteine aus (5, 41, 68, 74). Anhand der hier gewonnenen Resultate ist v. a. bei den weiblichen Neugeborenen aber durchaus an einen Übertritt maternalen IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 ins kindlich-venöse Blut zu denken, am

wahrscheinlichsten hervorgerufen durch den relativ großen Konzentrationsgradienten (vgl. Tabelle 11 und 12). IGFBP-1 kann in kleinen Mengen die Plazenta passieren (4, 74). Für IGFBP-2 ergeben sich widersprüchliche Ergebnisse. Warum bei Mädchen und Jungen von der Richtung her tendentiell oft gegensätzliche Ergebnisse gefunden wurden, ist völlig unklar, spricht aber für die oben erwähnte Notwendigkeit, in Zukunft bei ähnlichen Studien eine Differenzierung nach dem Geschlecht vorzunehmen.

Anhand von Zellkulturexperimenten (16, 79) und dem Nachweis von IGF-Rezeptoren im gesamten Plazentagewebe (65) geht man davon aus, daß die IGFs ihre vorwiegend anabolen Wirkungen auch in der Plazenta ausüben. In welchem Ausmaß dies durch selbst synthetisierte IGFs auf auto- bzw. parakrinem Weg oder endokrin über die zirkulierenden IGFs geschieht, ist ungewiß. Meine Ergebnisse zeigen einen positiven Zusammenhang zwischen den arteriellen IGF-I-Konzentrationen und dem Plazentagewicht. Womöglich nimmt der Fet also über die arteriellen IGF-I an der Regulation des Plazentawachstums und der Plazentafunktion teil. Die Ergebnisse könnten aber auch nur Spiegelbild einer guten placentären Nährstoffversorgung sein, die die IGF-I-Konzentration steigen läßt. Man kann hier nicht von einer eindirektionalen, linearen Kausalität ausgehen, sondern muß an ein komplexes, gegenseitiges Beeinflussen der verschiedenen Parameter denken, das eventuell mathematisch gar nicht klar zu beschreiben und im wesentlichen von der gesamten Ernährungssituation abhängig ist.

Es könnte sein, daß die Plazenta geringe Mengen an IGFBP-1 oder IGFBP-2 aufnimmt, worauf v. a. Vergleiche zwischen mRNA- und Peptidmengen hinweisen (4, 72). Die eigenen Ergebnisse können aber diese (eventuell nur geringen) Stoffverschiebungen nicht widerspiegeln. Eine Sekretion der Faktoren des IGF/IGFBP-Systems durch die Plazenta ist am wahrscheinlichsten für IGFBP-1. Die Deziduazellen stellen in der Schwangerschaft eine der Hauptquellen für IGFBP-1 dar (5). Allerdings läßt sich dies aus den eigenen Ergebnissen so nicht ableiten, da zu viele Einflußgrößen hinzukommen (v. a. das hier nicht mituntersuchte Chorion und die Leber als weitere Hauptquellen der IGFBP-1). Ins fetale Blut gelangen dabei nur sehr wenige IGFBP-1 (74). IGF-I wird nur in geringen Mengen ins fetale Blut abgegeben (74, 86), wird jedoch auch nur in geringen Mengen innerhalb der Plazenta synthetisiert (4). IGFBP-2 wird eventuell aus mütterlichen Deziduazellen ins fetale Blut sezerniert. Für eine IGFBP-3-Sekretion ins fetale oder maternale Blut gibt es keine sicheren Hinweise. IGF-II ist der in der Plazenta am stärksten vertretene IGF. Es finden sich große mRNA-Mengen von IGF-II in den fetalen Gewebsanteilen (4). Beim arteriovenösen Plazentadurchfluß werden die IGF-II-Konzentrationen wesentlich beeinflusst (vgl

Tabelle 15), obwohl nicht klar ist, inwieweit die Plazenta IGF-II verstoffwechselt oder sezerniert. Beides ist möglich und unterliegt offensichtlich starken individuellen Schwankungen. Ins mütterlichen Blut wird wahrscheinlich wenig bis gar kein IGF-II abgegeben.

## 7 Literaturverzeichnis

1. KIESS W., KESSLER U., SCHMITT S., FUNK B.: Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor I: Basic Aspects. in Flyvbjerg A., Orskov H., Alberti K. G. M. M. (Hrsg.): Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor I. J. Wiley and Sons Ltd., 1993, Kap. 1
2. KIESS W., 1996: persönliche Mitteilung
3. JONES J. I., CLEMMONS D. R.: Insulin-like Growth Factor I and Their Binding Proteins: Biological Actions. Endocrine Reviews 1995; 1:3-34
4. HAN V. K. M., BASSETT N., WALTON J., CHALLIS J. R. G.: The Expression of Insulin-like Growth Factor and Insulin-like Growth Factor Binding Protein Genes in the Human Placenta and Membranes: Evidence for IGF-IGFBP-Interactions at the Fetomaternal Interface. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1996; 7:2680-2693
5. CHARD T.: Insulin-like Growth Factors and their Binding Proteins in Normal and Abnormal Human Fetal Growth. Growth Regulation 1994; 4:91-100
6. GLUCKMAN P. D., HARDING J. E.: The Physiology and Pathophysiology of Intrauterine Growth Retardation. Hormone Research 1997; 48 (suppl. 1):11-16
7. COULTER C. L., HAN V. K. M.: Expression of Insulin-like Growth Factor II and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 mRNAs in Term Rhesus Monkey Placenta: Comparison with Human Placenta. Hormone Research 1996; 45: 167-171
8. COULTER C. L., HAN V. K. M.: The Pattern of Expression of Insulin-like Growth Factor (IGF), Typ-1-IGF-Rezeptor and Insulin-like Growth Factor Binding Protein (IGFBP) mRNAs in the Rhesus Monkey Placenta Suggests a Paracrine Mode of IGF-IGFBP Interaction in Placental Development. Placenta 1996; 17:451-460
9. GLUCKMAN P. D.: The Endocrine Regulation of Fetal Growth in Late Gestation: The Role of Insulin-like Growth Factors. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1995; 4:1047-1050
10. GIUDICE L. C., DE ZEGHER F., GARGOSKY E., DSUPIN B. A., DE LAS FUENTES L., CRYSTAL R.A., HINTZ R. L., ROSENFELD R.G.: Insulin-like Growth Factors and their Binding Proteins in the Term and Preterm Human Fetus and Neonate with Normal and Extremes of Intrauterine Growth. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1995; 5:1548-1555



11. LANGFORD K., BLUM W. F., NICOLAIDES K., JONES J., MCGREGOR A., MIELL J.: The Pathophysiology of the Insulin-like Growth Factor Axis in Fetal Growth Failure: A Basis for Programming by Undernutrition? *European Journal of Clinical Investigation* 1994; 24:851-856
12. BANG P., WESTGREN M., SCHWANDER J., BLUM W. F., ROSENFELD R. G., STANGENBERG M.: Ontogeny of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1, -2, and -3: Quantitative Measurements by Radioimmunoassay in Human Fetal Serum. *Pediatric Research* 1994; 4:528-536
13. HILLS F. A., GUNN L. K., HARDIMAN P., THAMARATNAM S., CHARD T.: Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 in the Placenta, Membranes and Fetal Circulation: Levels at Term and Preterm Delivery. *Early Human Development* 1996; 44:71-76
14. LASSARRE C., HARDOUIN S., DAFFOS F., FORESTIER F., FRANKENNE F., BINOUX M.: Serum Insulin-like Growth Factors and Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in the Human Fetus. Relationships with Growth in Normal Subjects and in Subjects with Intrauterine Growth Retardation. *Pediatric Research* 1991; 3:219-225
15. HAN V., LUND R. K., LEE D. C., D'ERCOLE A. J.: Expression of Somatomedin/Insulin-like Growth Factor Messenger Ribonucleic Acids in the Human Fetus: Identification, Characterization, and Tissue Distribution. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1988; 2:422-429
16. PRAGER D., WEBER M. M., HERMAN-BONERT V.: Placental Growth Factors and Releasing/ Inhibiting Peptides. *Seminars in Reproductive Endocrinology* 1992; 2:83-94
17. MARTIN J L, BAXTER R C.: Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3: Biochemistry and Physiology. *Growth Regulation* 1992; 2:88-99
18. OH Y., MÜLLER H. L., NEELY E.K., LAMSON G., ROSENFELD R. G.: New Concepts in Insulin-like Growth Factor Receptor Physiology. *Growth Regulation* 1993; 3:113-123
19. BRISMAR K., HALL K.: Clinical Applications of Insulin-like Growth Factor Binding Proteins-1 and its Regulation. *Growth Regulation* 1993; 3(1):98-100
20. BLUM W. F., HORN N., KRATZSCH J., JÖRGENSEN J. O. L., JUUL A., TEALE D., MOHNIKE K., RANKE M. B.: Clinical Studies of Insulin-like Growth Factor Binding Proteins-2 by Radioimmunoassay. *Growth Regulation* 1993; 3(1):100-104

21. CHARD T., BLUM W. F., BRUNJES J., CAMPBELL D. J., WATHEN N. C.: Levels of Insulin-like Binding Protein-2 in Maternal Serum, Amniotic Fluid and Extraembryonic Coelomic Fluid at 9-20 Weeks of Pregnancy. *Journal of Endocrinology* 1994; 142:379-383
22. HALL K., HANSSON U., LUNDIN G., LUTHMAN M., PERSSON B., POVOA G., STANGENBERG M., ÖFVERHOLM U.: Serum Levels of Somatomedins and Somatomedin-Binding Protein in Pregnant Women with Type I or Gestational Diabetes and Their Infants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1986; 6:1300-1306
23. LARSEN T., MAIN K., ANDERSSON A. M., JUUL A., GREISEN G., SKAKKEBAEK N. E.: Growth Hormone, Insulin-like Growth Factor I and its Binding Proteins 1 and 3 in Last Trimester Intrauterine Growth Retardation with Increased Pulsatility Index in the Umbilical Artery. *Clinical Endocrinology* 1996; 45:315-319
24. SUSAN J. WIDNESS J. A., HINTZ R., LIU F., SEHGAL P., SCHWARTZ R.: Somatomedins and Insulin in Diabetic Pregnancies: Effects on Fetal Macrosomia in the Human and Rhesus Monkey. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1984; 6:1099-1105
25. RAJARAM S., CARLSON S., KOO W. W. K., RANGACHARI A., KELLY D. P.: Insulin-like Growth Factor I and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 during the First Year in Term and Preterm Infants. *Pediatric Research* 1995; 5:581-585
26. KUBOTA T., TAKESHI A.: Influence of Insulin-like Growth Factors on Human Fetoplacental Function. In Soma H. (Hrsg.): *Placenta: Basic Research for Clinical Application*. Int. Conf. on Placenta, Tokyo, 1990. Basel, Karger, 1991, 115-125
27. OSORIO M., TORRES J., MOYA F., PEZZULLO J., SALAFIA C., BAXTER R., SCHWANDER J., FANT M.: Insulin-like Growth Factors and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1, -2, and -3 in Newborn Serum: Relationships to Fetoplacental Growth at Term. *Early Human Development* 1996; 46:15-26
28. MAURAS N., ROGOL A. D., HAYMOND M. W., VELDHUIS J. D.: Sex Steroids, Growth Hormone, Insulin-like Growth Factor I: Neuroendocrine and Metabolic Regulation in Puberty. *Hormone Research* 1996; 45:74-80
29. ROTWEIN P.: Structure, Evolution, Expression and Regulation of Insulin-like Growth Factor I and II. *Growth Factors* 1991; 5:3-18

30. JUUL A., DALGAARD P., BLUM W. F., BANG P., HALL K., MICHAELSEN K. F., MÜLLER J., SKAKKEBAEG N. E.: Serum Levels of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 in Healthy Infants, Children, and Adolescents: Relation to Insulin-like Growth Factor I, Insulin-like Growth Factor II, Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1, Insulin-like Growth Factor Binding Protein-2, Age, Sex, Body Mass Index, and Pubertal Maturation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1995; 8:2534-2542
31. RAJARAM S., BAYLINK D. J., MOHAN S.: Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in Serum and Other Biological Fluids: Regulation and Functions. *Endocrine Reviews* 1997; 6:801-831
32. LEWITT M. S., SCOTT F. P., CLARKE N. M., BAXTER R. C.: Developmental Regulation of Circulating Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in Normal Pregnancies and in Preeclampsia. *Progress in Growth Factor Research* 1995; 2-4:475-480
33. LEE P. A., SIEGEL S. W.: Androgens in Infancy, Childhood, and Adolescence. In Redmond G. P. (Hrsg.): *Androgenic Disorders*, Raven Press, Ltd., New York 1995, 59-76
34. BLUM W. F.: Insulinähnliche Wachstumsfaktoren und ihre Bindungsproteine. In Ranke M. B. (Hrsg.): *Endokrinologische Funktionsdiagnostik im Kinder- und Jugendalter*, J u. J.-Verlag Mannheim, 1993, 116-133
35. BLUM W. F., BREIER B. H.: Radioimmunoassays for IGFs and IGFBPs. *Growth Regulation* 1994; 4 (suppl. 1):11-19
36. CAUFRIEZ A., FRANKENNE F., HENNEN G., COPINSCHI G.: Regulation of Maternal Insulin-like Growth Factor I by Placental Growth Hormone in Pregnancy. Possible Action of Maternal Insulin-like Growth Factor I on Fetal Growth. *Hormone Research* 1994; 42:62-65
37. HANDWERGER S.: Clinical Counterpoint: The Physiology of Placental Lactogen in Human Pregnancy. *Endocrine Reviews* 1991; 4:329-336
38. WALKER W. H., FITZPATRICK S. L., BARRERA- SALDANA H. A., RESENDEZ-PEREZ D., SAUNDERS G. F.: The Human Placental Lactogen Genes: Structure, Evolution and Transcriptional Regulation. *Endocrine Reviews* 1991; 4:316-328
39. BARRIOS V., ARGENTE J., POZO J., HERVÁS F., MUNOZ M. T., SÁNCHEZ J. I., HERNÁNDEZ M.: Insulin-like Growth Factor I, Insulin-like Growth Factor Binding Proteins and Growth Hormone Binding Protein in Spanish Premature and Full-Term Newborns. *Hormone Research* 1996; 46:130-137

40. PFEILSCHIFTER J., SCHEIDT-NAVE C., LEIDIG-BRUCKNER G., WOITGE H. W., BLUM W. F., WÜSTER C., HAACK D., ZIEGLER R.: Relationship Between Circulating Insulin-like Growth Factors Components and Sex Hormones in a Population-based Sample of 50- to 80- Year-old Men and Women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 7:2534-2540
41. CHARD T.: Insulin-like Growth Factors and Their Binding Proteins in The Control of Human Fetal Growth. In: Ward R. H. T., Smith S. K., Donnai D., eds. *Early fetal growth and development*. London: RCOG Press, 1994; 293-315
42. HAN V. K. M., FOWDEN A. L.: Paracrine Regulation of Fetal Growth. In: Ward R. H. T., Smith S. K., Donnai D., eds. *Early fetal growth and development*. London: RCOG Press, 1994; 275-291
43. FOX H.: The Placenta in Intrauterine Growth Retardation. In: Ward R. H. T., Smith S. K., Donnai D., eds. *Early fetal growth and development*. London: RCOG Press, 1994; 223-244
44. KLAUWER D., BLUM W. F., HANITSCH S., RASCHER W., LEE P. D. K., KIESS W.: Insulin-like Growth Factor I, Insulin-like Growth Factor II, free Insulin-like Growth Factor I and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1, -2, and -3 Levels in Venous Cord Blood: Relationship to Birth Weight, Length, and Gestational Age in Healthy Newborns. *Acta Paediatrica* 1997; 86:1-8
45. FANT M., SALAFIA C., BAXTER R. C., SCHWANDER J., VOGEL C., PEZZULLO J., MOYA F.: Circulating Levels of Insulin-like Growth Factors and Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in Human Cord Serum: Relationships to Intrauterine Growth. *Regulatory Peptides* 1993; 48:29-39
46. PETRAGLIA F., FLORIO P., NAPPI C., GENAZZANI A. R.: Peptide Signaling in Human Placenta and Membranes: Autocrine, Paracrine, and Endocrine Mechanisms. *Endocrine Reviews* 1996; 2: 156-186
47. WANG H. S., LEE C. L. CHARD T.: Levels of Insulin-like Growth Factor I and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 in Pregnancy with Preterm Delivery. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1993; 100:472-475
48. SHIMASAKI S., LING N.: Identification and Molecular Characterization of Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5 and -6). *Progress in Growth Factor Research* 1991; 3:243-266
49. HILLS F. A., CRAWFORD R., HARDING S., FARKAS A., CHARD T.: The Effects of Labor on Maternal and Fetal Levels of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1994; 5:1292-1295

50. LAMSON G., GIUDICE L. C., ROSENFELD R. G.: Insulin-like Growth Factor Binding Proteins: Structural and Molecular Relationships. *Growth Factors* 1991; 5:19-28
51. ENGSTROM B. E., KARLSSON F. A., WIDE L.: Marked Gender Differences in Ambulatory Morning Growth Hormone Values in Young Adults. *Clinical Chemistry* 1998; 6:1289-1295
52. VAHL N., MOLLER N., LAURITZEN T., CHRISTIANSEN J. S., JORGENSEN J. O.: Metabolic Effects and Pharmacokinetics of a Growth Hormone Pulse in Healthy Adults: Relation to Age, Sex, and Body Composition. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 11:3612-3618
53. FALORNI A., BINI V., CABIATI G., PAPI F., ARZANO S., CELI F., SANASI M.: Serum Levels of Procollagen C-Terminal Propeptide, Insulin-like Growth Factor I, and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 in Obese Children and Adolescents: Relationship to Gender, Pubertal Development, Growth, Insulin, and Nutritional Status. *Metabolism* 1997; 8:862-871
54. ASHTON I. K., ZAPF J., EINSCHENK I., MACKENZIE I. Z.: Insulin-like Growth Factors IGF-I and IGF-II in Human Foetal Plasma and Relationship to Gestational Age and Foetal Size During Midgestation. *Acta Endocrinologica Copenhagen* 1985; 4:558-563
55. KAZER R. R., CHENG E. R., UNTERMAN T. G., GLICK R. P.: Maternal Plasma Concentrations of Insulin-like Growth Factor I and Human Placental Lactogen in Twin Pregnancies. *Acta Genet. Med. Gemellol. Roma* 1991; 3-4:383-387
56. FALL C. H., PANDIT A. N., LAW C. M., YAJNIK C. S., CLARK P. M., BREIER B., OSMOND C., SHIELL A. W., GLUCKMAN P. D., BARKER D. J.: Size at Birth and Plasma Insulin-like Growth Factor I Concentrations. *Arch. Dis. Child* 1995; 10:287-293
57. ARGENTE J., BARRIOS V., POZO J., MUNOZ M. T., HERVAS F., STENE M., HERNANDEZ M.: Normative Data for Insulin-like Growth Factors, Insulin-like Growth Factor Binding Proteins, and Growth Hormone-Binding Protein in a Healthy Spanish Pediatric Population: Age- and Sex-Related Changes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993; 12:1522-1528
58. NYSTROM F. H., OHMAN P. K., EKMAN B. A., OSTERLUND M. K., KARLBERG B. E., ARNQVIST H. J.: Population-Based Reference Values for Insulin-like Growth Factor I and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1: Relations With Metabolic and Anthropometric Variables. *European Journal of Endocrinology* 1997; 2:165-172

59. HARRELA M., KOISTINEN H., KAPRIO J., LEHTOVIRTA M., TUOMILEHTO J., ERIKSSON J., TOIVANEN L., KOSKENVUO M., LEINONEN P., KOISTINEN R.: Genetic and Environmental Components of Interindividual Variation in Circulating Levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 and IGFBP-3. *Journal for Clinical Investigation* 1996; 11:2612-2615
60. JUUL A., BANG P.,HERTEL N. T., MAIN K., DALGAARD P., JORGENSEN K., MULLER J., HALL K., SKAKKEBAEK N. E.: Serum Insulin-like Growth Factor I in 1030 Healthy Children, Adolescents, and Adults: Relation to Age, Sex, Stage of Puberty, Testicular Size and Body Mass Index. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994; 3:744-752
61. CRAWFORD R. A. F., HILLS F. A., FARKAS A., CHARD T.: Elevated Levels of Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1 in Fetal Distress. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1995; 7:538-540
62. DELMIS J., DRAZANCIC A., IVANISEVIC M., SUCHANEK E.: Glucose, Insulin, HGH and IGF-I-Levels in Maternal Serum Amniotic Fluid and Umbilical Venous Serum: a Comparison Between Late Normal Pregnancy and Pregnancies Complicated with Diabetes and Fetal Growth Retardation. *Journal of Perinatal Medicine* 1992; 20:47-56
63. MOORE K. L., PERSAUD T. V. N.: *Embryologie, Lehrbuch und Atlas der Entwicklungsgeschichte des Menschen*. 4. Auflage, Schattauer Verlag Stuttgart, New York, 1996:128-140
64. STEGNER H.E.: *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 4, Auflage, F. Enke Verlag Stuttgart, 1986:123-135
65. OWENS J. A.: Endocrine and Substrate Control of Fetal Growth: Placental and maternal Influences and Insulin-like Growth Factors. *Reprod. Fertil. Dev.* 1991; 3:501-517
66. WEIMANN E., KIESS W.: *Wachstumsfaktoren: Grundlagen, Biochemie und klinische Bedeutung*. Schattauer Verlag Stuttgart, New York, 1991:45-66
67. CLEMMONS D. R.: IGF Binding Proteins: Regulation of Cellular Actions. *Growth Regulation* 1992; 2:80-87
68. EVAIN-BRION D.: Hormonal Regulation of Fetal Growth. *Hormone Research* 1994; 42:207-214
69. FALCONER J., DAVIES J. J., ZHANG H.-P., SMITH R.: Release of Insulin-like Growth Factor I by the Sheep Placenta in vitro. *Reprod. Fertil. Dev.* 1991; 3:379-384

70. MIRLESSE V., FRANKENNE F., ALSAT E., PONCELET M., HENNEN G., EVAIN-BRION D.: Placental Growth Hormone Levels in Normal Pregnancy and in Pregnancies with Intrauterine Growth Retardation. *Pediatric Research* 1993; 4:439-442
71. HILL D. J.: What is the Role of Growth Hormone and Related Peptides in Implantation and the Development of the Embryo and the Fetus. *Hormone Research* 1992; 38 (suppl. 1):28-34
72. HILL D. J., CLEMMONS D. R., RILEY S. C., BASSETT N., CHALLIS J. R. G.: Immunohistochemical Localization of Insulin-like Growth Factors (IGFs) and IGF Binding Proteins-1, -2 and -3 in Human Placenta and Fetal Membranes. *Placenta* 1993; 14:1-12
73. IWASHITA M., KOBAYASHI M., MATSUO A., NAKAYAMA S., MIMURO T., TAKEDA J., SAKAMOTO S.: Feto-maternal Interaction of IGF-I and its Binding Proteins in Fetal Growth. *Early Human Development* 1992; 29:187-191
74. HSIEH T.-T., CHEN K.-C., HSU J.-J., CHIU T.-H., HSIEH C.-C., WANG H.-S.: Effects of Glucose on Placental Hormones in the Human Term Placenta in Vitro. *J. Formos. Med. Assoc.* 1997; 96:309-313
75. OHLSSON R., HOLMGREN L., GLASER A., SZPECHT A., PFEIFER-OHLSSON S.: Insulin-like Growth Factor II and Short-Range Stimulatory Loops in Control of Human Placental Growth. *The EMBO Journal* 1989; 7:1993-99
76. MILIO L. A., HU J., DOUGLAS G. C.: Binding of Insulin-like Growth Factor I to Human Trophoblast Cells During Differentiation in Vitro. *Placenta* 1994; 6:641-51
77. FEDERICI M., PORZIO O., ZUCARO L., FUSCO A., BORBONI P., LAURO D., SESTI G.: Distribution of Insulin/ Insulin-like Growth Factor-I Hybrid Receptors in Human Tissues. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1997; 2:121-126
78. REBOURCET R., DE CEUNINCK F., DEBORDE S., WILLEPUT J., FERRE F.: Differential Distribution of Binding Sites for <sup>125</sup>I-Insulin-like Growth Factor II on Trophoblast Membranes of Human Term Placenta. *Biol. Reprod.* 1998; 1:37-44
79. NESTLER J. E.: Insulin-like Growth Factor II is a Potent Inhibitor of the Aromatase Activity of Human Placental Cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1990; 5:2064-70
80. YAN-JUN L., TSHUSHIMA T., MINEI S., SANAKA M., NAGASHIMA T.: Insulin-like Growth Factors and IGF Binding Proteins (IGFBP-1, IGFBP-2 and IGFBP-3)

- in Diabetic Pregnancy: Relationship to Macrosomia. *Endocrine Journal* 1996; 2:221-231
81. HILLS F. A., ENGLISH J., CHARD T.: Circulating Levels of IGF-I and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 Throughout Pregnancy: Relation to Birth Weight and Maternal Weight. *Journal of Endocrinology* 1996; 2:303-309
  82. HARDING J. E, LIU L., EVANS P. C., GLUCKMAN P. D.: Insulin-like Growth Factor I Alters Feto-Placental Protein and Carbohydrate Metabolism in Fetal Sheep. *Endocrinology* 1994; 3:1509-1514
  83. LIU L., HARDING J. E, EVANS P. C., GLUCKMAN P. D.: Maternal Insulin-like Growth Factor I Infusions Alters Feto-Placental Carbohydrate and Protein Metabolism in Pregnant Sheep. *Endocrinology* 1994; 3:895-900
  84. KARL P. I.: Insulin-like Growth Factor I Stimulates Amino Acid Uptake by the Cultured Human Placental Trophoblast. *Journal of Cell Physiology* 1995; 1 83-88
  85. KNISS D. A., SHUBERT P. J., ZIMMERMANN P.D., LANDON M. B., GABBE S. G.: Insulin-like Growth Factors: Their Regulation of Glucose and Amino Acid Transport in Placental Trophoblasts Isolated from First-Trimester Chorionic Villi. *J. Reprod. Med.* 1994; 4:249-56
  86. SOREM K. A., SILER-KHODR T. M.: Placental IGF-I in Severe Intrauterine Growth Retardation. *J. Matern. Fetal. Med.* 1998; 1:1-7
  87. THOMSEN B. M., CLAUSEN H. V., LARSEN L. G., NURNBERG L., OTTESEN B., THOMSEN H. K.: Patterns in Expression of Insulin-like Growth Factor II and of Proliferative ACTIVITY IN THE Normal Human First and Third Trimester Placenta demonstrated by Non-Isotopic in Situ Hybridization and Immunohistochemical Staining for MIB-1. *Placenta* 1997; 2-3:145-154
  88. OWENS J. A., KIND K. L., CARBONE F., ROBINSON J. S., OWENS P. C.: Circulating Insulin-like Growth Factor I and Insulin-like Growth Factor II and Substrates in Fetal Sheep Following Restriction of Placental Growth. *Journal of Endocrinology* 1994; 1:5-13
  89. PRICE W. A., RONG L., STILES A. D., D'ERCOLE A. J.: Changes in IGF-I and IGF-II, IGF Binding Protein, and in IGF Receptor Transcript Abundance After Uterine Artery Ligation. *Pediatric Research* 1992; 3:291-295
  90. KIND K. L., OWENS J. A., ROBINSON J. S., QUINN K. J., GRANT P. A., WALTON P. E., GILMOUR R. S., OWENS P. C.: Effect of Restriction of Placental Growth on Expression of IGFs in Fetal Sheep: Relationship to Fetal Growth, Circulating IGFs and Binding Proteins. *Journal of Endocrinology* 1995; 1:23-34



91. MACCOBY E. E., DOERING C. H., JACKLIN C. N., KRAEMER H.:  
Concentrationsof Sex Hormones in Umbilical-Cord Blood: Their Relation to Sex  
and Birth Order of Infants. Child Development 1979; 3:632-642

## 8 Abkürzungsverzeichnis

<b>ACTH</b>	adrenocorticotropes Hormon
<b>ALS</b>	Acid Labile Subunit
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>BFGF</b>	basischer Fibroblastenwachstumsfaktor
<b>3<math>\beta</math>HSD</b>	3-beta-Hydroxysteroiddehydrogenase
<b>DANN</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>EGF</b>	epidermaler Wachstumsfaktor
<b>FSH</b>	follikelstimulierendes Hormon
<b>GH-v</b>	plazentäre Wachstumshormonvariante
<b>GnRH</b>	Gonadotropin Releasing Hormon
<b>HCG</b>	humanes Choriongonadotropin
<b>HCS</b>	humanes Chorionsomatomammotropin = hPL
<b>HGH</b>	humanes Wachstumshormon
<b>HPL</b>	Human Placental Lactogen = hCS
<b>IDDM</b>	insulinabhängiger Diabetes mellitus
<b>IGF</b>	insulinähnlicher Wachstumsfaktor
<b>IGF-I</b>	Insulin-like Growth Factor I
<b>IGF-II</b>	Insulin-like Growth Factor II
<b>IGFBP</b>	Bindungsprotein für IGF
<b>IGFBP-1</b>	Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1
<b>IGFBP-2</b>	Insulin-like Growth Factor Binding Protein-2
<b>IGFBP-3</b>	Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3
<b>KDa</b>	kilo Dalton (Molekulargewicht)
<b>LH</b>	Luteinisierungshormon
<b>M6P</b>	Mannose-6-Phosphat
<b>MG</b>	Molekulargewicht
<b>mRNA</b>	Botenribonukleinsäure
<b>MSA</b>	Multiplikation Stimulating Activity
<b>NGF</b>	Nervenwachstumsfaktor
<b>NSB</b>	nichtspezifische Bindung
<b>NSILA</b>	Non-Suppressible Insulin-like-Activity
<b>PDGF</b>	Thrombozytenwachstumsfaktor
<b>Rh</b>	rekombinant hergestellt
<b>RIA</b>	Radioimmunoassay

## 9 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

<b><u>Tabelle 1.</u></b>	Charakteristika von IGF-I und IGF-II	S.12
<b><u>Tabelle 2.</u></b>	IGF-I-, IGF-II- und IGFBP-3-Konzentrationen im Serum bei verschiedenen Erkrankungen	S.13
<b><u>Tabelle 3.</u></b>	Biologische Wirkung der IGFs	S.14
<b><u>Tabelle 4.</u></b>	IGF-Bindungsproteine	S.18
<b><u>Tabelle 5.</u></b>	IGF-Rezeptoren	S.19
<b><u>Tabelle 6.</u></b>	Verdünnungen	S.23
<b><u>Tabelle 7.</u></b>	Verwendete Reagenzien	S.24
<b><u>Tabelle 8.</u></b>	Variabilität innerhalb der Serie (Intraassay-Abweichungen)	S.24
<b><u>Tabelle 9.</u></b>	Variabilität von Tag zu Tag (Interassay-Abweichung)	S.25
<b><u>Tabelle 10.</u></b>	Sensitivitäten bzw. Spezifitäten der jeweiligen RIAs	S.25
<b><u>Tabelle 11.</u></b>	Pipettierschema für die IGF/ IGFBP-RIAs	S.25
<b><u>Tabelle 12.</u></b>	Serumspiegel für IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 und IGFBP-3 bei männlichen und weiblichen Neugeborenen am Termin	S.28

<b><u>Tabelle 13.</u></b>	Wilcoxon-Rangsummentest für ungepaarte Stichproben und Mediantest zur Prüfung auf geschlechtsspezifische Unterschiede der arteriellen, venösen und maternalen Serumkonzentrationen bei Termingeborenen	S.29
<b><u>Tabelle 14.</u></b>	Korrelationen von Plazentagewicht mit den IGF/ IGFBP- Serumkonzentrationen in arteriellem, venösem und maternalen Blut bei Termingeborenen	S.31
<b><u>Tabelle 15.</u></b>	Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln bei Termingeborenen	S.31
<b><u>Tabelle 16.</u></b>	Regressionsanalyse der arteriovenösen Spiegeldifferenzen mit den maternalen Serumkonzentrationen der Komponenten des IGF/ IGFBP-Systems bei Termingeborenen	S.35
<b><u>Tabelle 17.</u></b>	Regressionsanalyse der logarithmierten venösen bzw. arteriellen mit den maternalen Serumkonzentrationen der IGF/ IGFBPs bei Termingeborenen	S.35
<b><u>Tabelle 18.</u></b>	Literaturvergleich von Serumkonzentrationen der IGFs und der IGFBPs im venösen Nabelschnurblut bei Termingeborenen	S.41
<b><u>Tabelle 19.</u></b>	Literaturvergleich von Serumkonzentrationen der IGFs und der IGFBPs im maternalen Blut zum Geburtszeitpunkt	S.41

<b><u>Abbildung 1 und 2:</u></b>	Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln von IGF-I bei weiblichen und männlichen Termingeborenen	S.32
<b><u>Abbildung 3 und 4:</u></b>	Regressionsanalyse zwischen logarithmierten arteriellen und venösen Serumspiegeln von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen	S.33
<b><u>Abbildung 5 und 6:</u></b>	Regressionsanalyse der logarithmierten venösen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGF-I bei weiblichen und männlichen Termingeborenen	S.36
<b><u>Abbildung 7 und 8:</u></b>	Regressionsanalyse der logarithmierten venösen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen	S.37
<b><u>Abbildung 9 und 10:</u></b>	Regressionsanalyse der logarithmierten arteriellen mit den maternalen Serumkonzentrationen von IGFBP-3 bei weiblichen und männlichen Termingeborenen	S.38

## 10 Danksagung

Zunächst möchte ich ganz herzlich Herrn Prof. Dr. W. Kiess für die Vergabe dieser Dissertation, seine enge und intensive Betreuung, seine zahlreichen Anregungen und die vielen wertvollen Diskussionen danken. Mein Dank gilt weiterhin Herrn PD Dr. W. F. Blum und der Firma Lilly-Pharma für ihre freundliche Bereitstellung des gut ausgestatteten und von erfahrenen Mitarbeiterinnen geführten Labors. Ohne Unterstützung insbesondere von Laborleiterin Frau S. Hanitsch wären die Ergebnisse bedeutend schwieriger zu erlangen gewesen.

Ich möchte mich weiter bedanken bei den Hebammen, Schwestern und Mitarbeitern der verschiedenen geburtshilflichen Kliniken, die mir wesentliche Arbeit abgenommen haben. Hervorzuheben in diesem Zusammenhang ist Herr PD Dr. C. Schubring, gynäkologischer Belegarzt am Evangelischen Krankenhaus Gießen sowie Herr PD Dr. M. Hermsteiner, Gynäkologe an der Universität Gießen.

Die oft sehr zeitraubende Unterstützung von Herrn Dr. R.-H. Bödeker und Frau Scheibelhut bei der statistischen Auswertung verdient ebenfalls meinen ausgesprochen herzlichen Dank, insbesondere die wiederholt sehr geduldig geführten und lehrreichen Beratungsgespräche.

Mein größter Dank gilt meiner mich in allen Phasen unterstützenden und immer wieder motivierenden Familie sowie Herrn M. Dressel, der einen wesentlichen Teil meiner Arbeit maßgeblich mitgetragen hat.

## 11 Lebenslauf

<b>Persönliche Daten:</b>	Name:	Legner
	Vornamen:	Florian, Franz, Tobias
	Geburtsdatum	14.07.1968 in Gräfelfing
	Anschrift:	Kemmerlangerstr. 22/7, 88214 Ravensburg
	Familienstand:	verheiratet, zwei Kinder
	Eltern:	Rudolf Legner, Dipl.Ing. Dr. med. Erika Legner, geb. Landmann, Fachärztin für Allgemeinmedizin
<b>Schulbildung:</b>	1974 - 1978	Grundschule in Nußdorf
	1978 - 1987	Chiemgaugymnasium in Traunstein
		Abschluß: Allgemeine Hochschulreife
<b>Wehrdienst:</b>	1987 - 1988	Hochgebirgszug in Bad Reichenhall
<b>Hochschulbildung:</b>	1988 - 1990	Techn. Univ. München: Studiengang Physik bis zum Vordiplom
	1991 - 1997	Univ. Gießen: Studiengang Humanmedizin
	1993	Physikum
	1994	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	1996	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	1997	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
<b>Stipendium:</b>	seit 1995	Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes e.V.
<b>AIP:</b>	2/1998 -	Kinderklinik der JLU Gießen, 1 Jahr Neuropä-
	7/1999	datrie bei Prof. Dr. Neuhäuser, ½ Jahr Allge-

**Weiterbildung:** Seit 11/1999

meinpädiatrie bei Prof. Dr. Gortner  
Assistenzarzt in der Abteilung für  
internistische Psychosomatik in der  
Schussentalklinik in Aulendorf